

Puente entre **MEDICINA** e **INGENIERIA**
Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica

LIBRO DE ACTAS

Ciudad Politécnica de la Innovación (UPV) | VALENCIA

23 AL 25 DE NOVIEMBRE DE 2016

@caseib16

<http://caseib16.es>



Organizado por:



Avalado por:



Patrocinado por:





CASEIB
2016
XXXIV

Congreso Anual
de la Sociedad
Española de
Ingeniería
Biomédica

LIBRO DE ACTAS



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



VLC/
CAMPUS
VALENCIA, CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL



Valencia, 23, 24 y 25 de noviembre de 2016

Congresos UPV

CASEIB 2016 XXXIV Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica

Los contenidos de esta publicación han sido evaluados por el Comité Científico que en ella se relaciona y según el procedimiento que se recoge en www.caseib16.es

Editor científico

Raimon Jané Campos

Maquetación

Jose M. Bueno Barrachina

Yiyao Ye Lin

Diseño de portada

Carlos Garrigues

Editorial

Editorial Universitat Politècnica de València.

www.lalibreria.upv.es / Ref.: 6342_01_01_01

ISBN: 978-84-9048-531-6 (versión CD)



CASEIB 2016 XXXIV Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica

Se distribuye bajo una [licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

PREÁMBULO

Estimados participantes,

En nombre del Comité Organizador, es para mí un honor darles la bienvenida al XXXIV Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB). El lema elegido para esta edición “Puente entre medicina e ingeniería” quiere enfatizar la necesaria colaboración entre ingenieros y médicos para avanzar en la investigación y el desarrollo de tecnologías que mejoren la calidad de vida de las personas. CASEIB es un foro de referencia en España para el encuentro de científicos, profesionales de la industria de tecnología médica, ingenieros biomédicos y clínicos, con el objetivo de debatir las últimas novedades en investigación, educación y aplicación industrial y clínica de la ingeniería biomédica.

En la presente edición, más de 150 trabajos de alto nivel científico serán presentados en 18 sesiones paralelas y 3 sesiones de póster, que se centrarán en áreas relevantes de la Ingeniería Biomédica, como son bioinstrumentación, señales biomédicas, imágenes biomédicas, telemedicina, biomateriales, biomecánica, simulación y planificación quirúrgica, sistemas de ayuda a la decisión en medicina, informática biomédica, modelado de sistemas biomédicos y sistemas de información clínica. Entre las sesiones paralelas se pueden destacar la sesión plenaria Premio José María Ferrero Corral y la sesión de Competición de alumnos de Grado en Ingeniería Biomédica, que pretenden fomentar la participación de jóvenes estudiantes e investigadores en este foro científico.

El congreso incluye dos ponencias invitadas de científicos reconocidos internacionalmente que abordan dos grandes retos científico-tecnológicos. La primera conferencia del Dr. José María Benlloch de Instituto de Instrumentación para Imagen Molecular (CSIC-UPV) nos presenta los últimos avances en sistemas de imágenes médicas. La segunda conferencia impartida por el Dr. Olaf Dössel del Karlsruhe Institute of Technology (KIT) presenta novedosos modelos computacionales de la actividad cardíaca, y su utilización en el diagnóstico y en la aplicación de terapias personalizadas.

Las sesiones científicas se ven complementadas con dos mesas redondas que a buen seguro serán de gran interés para todos los asistentes. En la primera de ellas, “la ingeniería biomédica en la investigación e innovación en salud”, representantes de las sociedades científicas de radiología médica (SERAM), sueño (SES), investigaciones quirúrgicas (SEIQ), cirugía laparoscópica y robótica (SECLA), cardiología (SEC) e ingeniería biomédica (SEIB) debatirán sobre los desafíos científico-tecnológicos a los que se enfrentan las diferentes disciplinas médicas. La segunda mesa reúne a profesionales con una larga trayectoria en el sector de la tecnología médica para debatir sobre el papel que deben jugar los ingenieros biomédicos en centros hospitalarios, empresas y centros de investigación.

Por primera vez, en colaboración con FENIN, se organiza un foro de emprendedores en tecnologías y sistemas de información clínica. En dicho foro participarán más de 40 empresas del sector, lo que facilitará el acercamiento entre las principales empresas de tecnología médica, los grupos de investigación y los egresados de grado, máster y doctorado.

El programa científico se complementa con dos actos sociales que permitirán a los participantes acercarse a la historia y cultura valenciana. Esperamos que las diferentes actividades programadas contribuyan a que todos disfruten estos días de un enriquecedor y fructífero intercambio de ideas.



F. Javier Saiz Rodríguez

Presidente del Comité Organizador de CASEIB 2016

COMITÉ ORGANIZADOR

Presidente del Comité Organizador

F. Javier Saiz Rodríguez

Secretario

F. Javier García Casado

Secretaria Comité Técnico

Lucía Romero Pérez

Vocales

K 'U " "

K '# García

Jose María Ferrero De Loma-Osorio

K '8 u)

°) 'O 'h

K 'O 'U ' K

° 'U "

8 'h "

k 'k ' 'o '8

k 'o "

Yiyao Ye Lin

COMITÉ CIENTÍFICO

Presidente

Raimon Jané Campos
Universitat Politècnica de Catalunya

Secretaria

Beatriz Trenor Gomis
Universitat Politècnica de València

Vocales

Begoña Acha Piñero
Universidad de Sevilla

María Salud Gillem Sánchez
Universitat Politècnica de València

Mariano Alcañiz Raya
Universitat Politècnica de València

Roberto Hornero Sánchez
Universidad de Valladolid

Elisabete Aramendi Ecenarro
Universidad del País Vasco

Pablo Laguna Lasasosa
Universidad de Zaragoza

Sergio Arana Alonso
Universidad de Navarra

M^a Jesús Ledesma Carbayo
Universidad Politécnica de Madrid

César Cáceres Taladriz
Universidad Rey Juan Carlos de Madrid

Ramón Martínez Máñez
Universitat Politècnica de València

Pere Caminal Magrans
Universitat Politècnica de Catalunya

Julio Mayol Martínez
Universidad Complutense de Madrid

Francisco del Pozo Guerrero
Universidad Politécnica de Madrid

José Millet Roig
Universitat Politècnica de València

Manuel Desco Menéndez
H.G.U. Gregorio Marañón

Carlos Monserrat Aranda
Universitat Politècnica de València

Jose María Ferrero y de Loma-Osorio
Universitat Politècnica de València

Maite Mujika Garmendia
Universidad de Navarra

Javier García-Casado
Universitat Politècnica de València

José Luis Pons Rovira
GBIO-CSIC

Beatriz F. Giraldo Giraldo
Universidad Politécnica de Catalunya

Jesús Poza Crespo
Universidad de Valladolid

Enrique J. Gómez Aguilera
Universidad Politécnica de Madrid

Gema Prats Boluda
Universitat Politècnica de València

Juan F. Guerrero Martínez
Universitat de València

Javier Reina Tosina
Universidad de Sevilla

José Joaquín Rieta Ibáñez
Universitat Politècnica de València

Laura M. Roa Romero
Universidad de Sevilla

Joaquín Roca Dorda
Universidad Politécnica de Cartagena

Isabel Román Martínez
Universidad de Sevilla

Lucía Romero Pérez
Universitat Politècnica de València

Francisco Javier Rosell Ferrer
Universitat Politècnica de Catalunya

Francisco Javier Saiz Rodríguez
Universitat Politècnica de València

Josep Samitier Martí
Institute for Bioengineering of Catalonia

Patricia Sánchez González
Universidad Politécnica de Madrid

Francisco Miguel Sánchez Margallo
Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón

Daniel Sánchez Morillo
Universidad de Cádiz

Andrés Santos Lleó
Universidad Politécnica de Madrid

Rafael Sebastián Aguilar
Universitat de València

Carmen Serrano Gotarredonda
Universidad de Sevilla

José María Tormos Muñoz
Institut Guttman Badalona

Montserrat Vallverdu Ferrer
Universitat Politècnica de Catalunya

Juan José Vaquero
Universidad Carlos III de Madrid

Yiyao Ye Lin
Universitat Politècnica de València

ORGANIZADORES

Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (Ci²B)
de la Universitat Politècnica de València

Sociedad Española de Ingeniería Biomédica



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

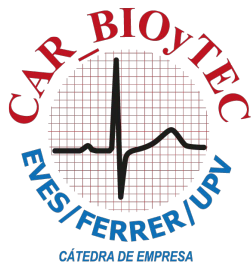


AVALADO POR:

International Federation for Medical and Biological Engineering



PATROCINADO POR:



ÍNDICE DE SESIONES CIENTÍFICAS

Miércoles 23 de Noviembre de 2016

Sesión X1: Imágenes Biomédicas 1

Corrección empírica del artefacto de endurecimiento de haz exento de calibración.....	2
Harmonic Auto-Regularization for Non Rigid Groupwise Registration in Cardiac Magnetic Resonance Imaging.....	5
Segmentación automática de la excavación en retinografías basada en gradientes de color y clasificador Complex Tree.....	9
Análisis de Textura Neuronal en modelo murino de la enfermedad Síndrome de Down.....	13
Evaluación de la calidad de métodos extractores de características locales en imágenes de resonancia magnética cerebral.....	17

Sesión X2: Señales Biomédicas 1

Detección de Estrés Mental mediante el Wavelet Cross-Bispectrum Cardiorrespiratorio.....	22
Análisis tiempo-frecuencia para clasificación temprana de fibrilación auricular persistente y persistente de larga evolución.....	26
Sistema de obtención y procesado de Mismatch Negativity en modelo animal de encefalopatía hepática mínima.....	30
Caracterización de la señal de presión intracraneal empleando la divergencia de Jensen.....	34
A first approach to Arrhythmogenic Cardiomyopathy detection through ECG and Hidden Markov Models.....	38
Método basado en la correlación para la medida de duración de los potenciales de acción de unidad motora.....	42

Sesión X3: Simulación y Planificación Quirúrgica

Comparación de un método de segmentación de tumores retroperitoneales con herramientas comerciales de uso clínico.....	47
Estudio por simulación de las técnicas IBC galvánicas aplicadas a la estimulación neuronal: una aproximación mediante FEM	51
Impresión 3D de escritorio dentro del entorno clínico.....	55
Navegación quirúrgica de la Neuromodulación de las Raíces Sacras.....	59
Integración de escáner de superficie con un sistema de posicionamiento electromagnético para el guiado en cirugía de cáncer de mama.....	63

Sesión X4: Modelado de Sistemas Biomédicos

Analysis of Ion Currents Contribution to Repolarization in Human Heart Failure Using Computer Models.....	68
Modelado y simulación del efecto del moxifloxacin en la componente rápida de la corriente diferida rectificadora de potasio.....	72
Simulación del efecto de la ranolazina en presencia del SQT1 3 producido por la mutación SCN5A V411M.....	76
Mejora en la predicción del riesgo de cardiotoxicidad inducida por fármacos mediante un nuevo biomarcador.....	80
Populations of models: A new approach for understanding the mechanisms of atrial fibrillation....	84

Sesión X5: Sensores Biomédicos

Desarrollo de un sensor potenciométrico de pH para el análisis in situ de fluidos biológicos.....	89
Needle based sensors for the continuous Ischemia-Hypoxia monitoring.....	93
Posiciones alternativas del sensor de aceleración para la medida fiable de la calidad de las compresiones torácicas durante la resucitación cardiopulmonar.....	97
Estrés percibido por los pacientes de centros de salud. Un estudio mediante GSR y HRV como medidas complementarias al cuestionario.....	101
Study of time-frequency characteristics of single snores: extracting new information for sleep apnea diagnosis.....	105
Sensor inteligente para la determinación de la variabilidad de la frecuencia cardiaca en tiempo real.....	109

Sesión X6: Imágenes Biomédicas 2

Análisis de Imágenes de Resonancia Magnética Cerebrales para la Detección de Tumores mediante la Transformada Watershed.....	114
3D confocal imaging in CUBIC-cleared mouse heart.....	118
Evaluación del nivel de gravedad de la retinopatía diabética mediante características visuales y deep learning.....	122
Preliminary Evaluation of Radiological Biomarker to Characterize Longitudinal Evolution of Tuberculosis	126
Diagnóstico citopatológico de cáncer de piel mediante análisis de imágenes hiperespectrales infrarrojas.....	130

Sesión X7: Informática Biomédica / Telemedicina

SeniorFit: Una aplicación móvil para el seguimiento de la adherencia a estilos de vida saludable para gente mayor.....	135
Dispositivos Personalizados para la Monitorización e Interacción con Entornos Virtuales en Rehabilitación de la Extremidad Superior.....	139
Plataforma PERSSILAA: Algoritmos y herramientas de ayuda a la decisión para la prevención de la fragilidad en personas mayores.....	143
Metodología para el modelado de Recursos HL7 FHIR con arquetipos del estándar ISO13606.....	147
Ventajas del uso de las herramientas de mallado en MCNP6: Tres estudios de casos médicos.....	151

Sesión X8: Biomateriales

Microfluidic platform for dynamic in vitro optimization of methotrexate-loaded lipid nanoparticle delivery for personalized osteosarcoma treatment.....	156
Microfluidic Platform for Circulating Tumor Cells Isolation.....	160
Influencia del voltaje en la formación de nanotubos en aleaciones α , $\alpha+\beta$ y β de titanio.....	164
Desarrollo de una plataforma para el estudio de la interacción célula-matriz extracelular en 3D..	168

Sesión J1: Imágenes Biomédicas 3

Localización automática de la papila y la fovea en retinografías.....	173
Una implementación Eficiente No Paralela de Secuencias de Resonancia Magnética mediante Matrices Sparse.....	177
Characterization of Tumor Heterogeneity by Texture Analysis in ¹⁸ F-FDG PET images: A Pilot Study.....	181
Herramienta Software para la Segmentación del Árbol Dendrítico y Análisis de Sholl en Imágenes Neuronales	185

Sesión J2: Señales Biomédicas 2

Detección Automática de Fibrilación Auricular Mediante Medidas de Energía Espectral Relativa..	190
Índice de variación de la onda T como predictor de muerte súbita cardíaca en pacientes con insuficiencia cardíaca en fibrilación auricular.....	194
Direccionalidad del Flujo de Información de la Actividad Electroencefalográfica en la Enfermedad de Alzheimer.....	198
Análisis de la señal de oximetría mediante la densidad espectral de potencia y bispectrum en la ayuda al diagnóstico de la apnea infantil.....	202

Sesión J3: Bioinstrumentación

Ultra-low power photoplethysmography SpO ₂ measuring techniques.....	207
Sistema inalámbrico para el seguimiento de pacientes con insuficiencia cardíaca basado en la medida localizada de bioimpedancia.....	211
Desarrollo de un estimulador electromecánico programable para el entrenamiento electromecánico de cultivos monocapas de células miocárdicas.....	215
Prototipo de pulsera para la medida de ECG bajo demanda y la medida continua de la onda de pulso.....	219

Sesión: PREMIO José María Ferrero Corral

Caracterización de la respuesta electrofisiológica uterina al fármaco misoprostol en base a registros de electrohisterografía (EHG).....	224
Análisis espectral de la señal de flujo aéreo como ayuda al diagnóstico del síndrome de apnea-hipopnea del sueño en niños.....	228
Entornos biomiméticos para la estimulación de células en cultivos tridimensionales.....	232
Estudio Mediante Simulación de las Causas de la Acumulación de Sodio en Pacientes con Insuficiencia Cardíaca.....	236
Análisis de los patrones de conectividad neuronal mediante EEG en la enfermedad de Alzheimer.	240
Evaluación de un dispositivo inalámbrico para el registro de la actividad electromiográfica del músculo diafragma.....	244

Sesión J4: Miscelánea

Efecto en la clasificación de imaginación motora a partir del EEG al aplicar tDCS en la corteza motora y el cerebelo.....	249
Design of a Dynamic Spinal Implant for the treatment of Early Onset Scoliosis.....	253
Design and Implementation of a Bio-printer for Cardiac Structures.....	257
Herramienta para la Evaluación Automática del Alzheimer y Otras Demencias Relacionadas.....	261
Validación objetiva mediante técnicas de eye-tracking del módulo online para la formación de enfermeros en laparoscopia.....	265
Adaptación del Servicio de Identificación de WSO2 al dominio sanitario.....	269

Sesión J5: Competición alumnos GIB

Sistema de ayuda a la decisión clínica para la evaluación de colaterales en pacientes de ictus.....	274
Segmentación del nodo vesical a partir del plano transversal de imágenes ecográficas de la región suprapúbica.....	278
Estudio de las causas de la hiperkalemia durante la isquemia miocárdica aguda en corazón humano mediante simulación computacional.....	282
Objective measurement of inhaler inhalation flow profile using acoustic methods.....	286
Medida de la frecuencia dominante en registros eléctricos auriculares mediante filtrado convolucional.....	290
Design of a wireless, standard-based patient monitoring system for operating rooms.....	294
Development and Implementation of Biological Circuits Using Excitable and Non-Excitable Cells.....	298
Fluorescence Endoscopy in vivo based on Fiber-bundle Measurements.....	302

Development of a 3D-Printed Robotic Prosthetic Arm.....	306
Development of a multiplexer for an automatic data acquisition system for the control and monitoring of microbiological cultures.....	310
Characterizing functional connectivity during rest in multiple sclerosis patients versus healthy volunteers using independent component analysis.....	314
A new clinical tool for the quantification of myocardial CT perfusion imaging in patients with suspected Ischemic Heart Disease.....	318
Analysis and quantification of Cerebral Blood Flow as a possible biomarker in Early Alzheimer's Disease.....	322
Espectrometría de impedancia eléctrica en tejido pulmonar.....	326
Computational estimation of the gain image of Direct Electron Detectors	330
Local analysis of strains and rotations for macromolecular electron microscopy maps.....	333

Sesión J6: Biomecánica

Spatial and temporal variations of the callus mechanical properties during bone transport.....	338
Diseño experimental de una novedosa prótesis de reemplazo total de disco lumbar.....	342
Desarrollo de una simulación biomecánica para la determinación de las cargas sobre la fascia plantar durante el ciclo de marcha.....	345
Numerical Methods Are Feasible for Assessing Surgical Techniques: Application to Astigmatic Keratotomy.....	349

Sesión V1: Sistemas de Ayuda a la Decisión en Medicina

Control de calidad automatizado de espectros de resonancia magnética de tumores cerebrales, mediante Convex Non-negative matrix factorization	354
Modelo económico de simulación para la evaluación del tratamiento de la Hepatitis C crónica.....	358
Mejora en la detección del cáncer de próstata usando biomarcadores de modelos farmacocinéticos de segunda generación y métodos estadísticos de variables latentes.....	362
Registro del electrohisterograma con electrodos anulares concéntricos en semanas de gestación tempranas	366
Detección y clasificación de enfisema pulmonar en imágenes de TAC mediante Redes Neuronales Convolucionales Multiescala	370

Sesión V2: Imágenes Biomédicas 4

Improved automatic filtering methodology for an optimal pharmacokinetic modelling of DCE-MR images of the prostate.....	375
Segmentación de la fovea mediante morfología matemática en imágenes de fondo de ojo.....	379
Diagnóstico Automático del Glaucoma a través de la Segmentación y Análisis de la Copa Óptica Usando Imágenes de Fondo de Ojo	383
Análisis de los depósitos de hierro en el cerebro mediante imágenes de resonancia magnética como posible biomarcador de la enfermedad de Alzheimer.....	387

Sesión V3: Señales Biomédicas 3

Cuantificación de la Variabilidad de la Amplitud de la Onda T Mediante Técnicas de Re-parametrización Temporal.....	392
Caracterización de pacientes con diferentes niveles de riesgo cardiovascular mediante diagramas de Poincaré.....	396
Caracterización de la actividad neuronal en pacientes con la enfermedad de Alzheimer tras una sesión de estimulación multisensorial.....	400
Análisis de la Actividad MEG en Pacientes con Deterioro Cognitivo Leve Mediante la Probabilidad de Sincronización y Parámetros Derivados de la Teoría de Redes Complejas.....	404
Determination of Hemodynamic Changes on Heart Rate for Assessment of Orthostatic Intolerance in Older People.....	408
Evolución de la frecuencia dominante en fibrilación auricular accidental en el tratamiento con vernakalant.....	412

ÍNDICE DE PÓSTERS

Sesión Pósters 1

Desarrollo de un sistema de adquisición de señales electrofisiológicas.....	417
Testing and development of an OWC MRI compatible PET insert front-end.....	421
Estudio de la espectroscopía de ruptura inducida por láser aplicada a tejidos biológicos craneales	423
Caracterización sub-micrométrica de superficies en biomateriales mediante holografía digital.....	427
Desarrollo de un Pulsioxímetro de Bajo Coste mediante el uso de recursos educativos abiertos: método de Aprendizaje de Biofotónica en el GIB.....	431
Cálculo de Dosis en Adquisición de Imágenes por Tomografía Computarizada.....	435
Nuevo método para la segmentación automática del cartílago rotuliano basado en un método de crecimiento de regiones direccional.....	439
Realce de imágenes mamográficas para su análisis y clasificación mediante un sistema CAD basado en redes neuronales convolucionales.....	443
Validación preliminar de la aplicación Cliente/Servidor del software DeMILI para el diagnóstico de enfermedades del hígado.....	447
Modelo logit de regresión nominal para la detección de fibras de reticulina en histopatología.....	451
Diagnóstico Automático del HER2 con Deep Learning.....	455
Método automático de análisis y segmentación de imágenes para la detección de nódulos pulmonares a partir de radiografías de tórax.....	459
Monitorización del cartílago tibial en pacientes con osteoartritis basada en estudios multiseuencia de RM.....	463
Estudio Mediante Simulación Del Efecto De La Hipocalemia E Hipercalemia En La Actividad Eléctrica De Cardiomiocitos Y Cardiomiocitos Derivados De Células Madre.....	467
Estudio mediante modelado y simulación del efecto de la isquemia miocárdica aguda en las fibras de Purkinje de corazón humano.....	471

Sesión Pósters 2

Modelo Computacional Cardíaco de 3 campos: sangre, electrofisiología y tejido.....	476
Análisis de la refusión superficial por láser de aleaciones Ti-Nb sinterizadas para aplicaciones biomédicas.....	479
Microstructure and mechanical properties of sintered Ti Binary alloys for dental applications.....	483
Método de preparación de aleaciones Ti-Co para aplicaciones biomédicas.....	487

Evaluación térmica de un sistema radiante de microondas para el tratamiento del cáncer de mama mediante hipertermia.....	491
Desarrollo e implantación del subproceso de Primera Visita en una Unidad de Litotricia y Endourología de un hospital terciario.....	495
Desarrollo e implantación del subproceso de Litotricia Extracorpórea en una Unidad de Litotricia y Endourología de un hospital terciario.....	499
Aplicación de la Metodología E-UNIHEALTH para el diagnóstico de la depresión en un contexto universitario específico.....	503
Desarrollo de una plataforma web para el acceso interactivo a una base de datos SQL con información biológica de competiciones deportivas.....	507
Diseño y validación de un sistema de evaluación de déficits de atención mediante técnicas de eye-tracking.....	511
Clasificación de trastornos del sueño a partir del análisis de señales cerebrales mediante wavelets y técnicas estadísticas de Análisis Multivariante.....	515
Aplicación de algoritmos genéticos en el control de la hipertensión arterial.....	519
Propuesta de sistema para el seguimiento de enfermos de Crohn.....	523
Seguimiento personalizado durante el diagnóstico en mujeres con una lesión mamaria sospechosa.....	527

Sesión Pósters 3

Análisis predictivo de respuesta a la Terapia de Resincronización Cardíaca mediante análisis del ECG.....	532
Clasificación de registros de microelectrodo para localización de zonas de estimulación en pacientes de Parkinson.....	536
Análisis de la influencia de la amplitud de la fibrilación ventricular en los predictores del éxito de la desfibrilación.....	540
Pulsecurity: descripción funcional, hardware y procesado de señal de un sistema de monitorización para la tercera edad.....	544
Eliminación de Ruido en Electrogramas de Fibrilación Auricular Mediante Descomposición de Modo Empírico.....	548
Análisis de la señal ECG en pacientes con enfermedad de Párkinson.....	552
Evaluación del registro y transmisión de señales electromiográficas mediante un dispositivo inalámbrico.....	556
Detección del retorno de la circulación espontánea en base al electrocardiograma.....	560

Análisis de las limitaciones técnicas de las Google Glass en su aplicación en soluciones médicas.....	564
EmERGE project: Evaluating mHealth technology in HIV to improve Empowerment and healthcare utilisation.....	568
Aplicación de coreografía de servicios para el acceso y gestión de sensores de monitorización de la salud.....	572
Algoritmia y eficiencia para valoración clínica de variabilidad cardíaca en monitorización prolongada.....	576
Aplicación móvil para la gestión de una red inalámbrica de sensores corporales biomédicos.....	580
Migración de una aplicación web de gestión de pacientes nefrológicos a la nube usando contenedores.....	584

Imágenes Biomédicas 1

Miércoles 23 de Noviembre

Corrección empírica del artefacto de endurecimiento de haz exento de calibración

Cristóbal Martínez Sánchez^{1,2}, Claudia de Molina Gómez^{1,2}, Manuel Desco Menéndez^{1,2,3}, Mónica Abella García^{1,2}

¹ Depto. Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, España

² Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid

³ Centro de investigación en red en salud mental (CIBERSAM), Madrid

Resumen

El endurecimiento de haz es un fenómeno físico por el cual la energía media del haz de rayos X aumenta a medida que atraviesa un material. Los artefactos más comunes producidos por este fenómeno en imágenes de tomografía computarizada son: cupping, en muestras homogéneas, y bandas, entre zonas más densas en muestras heterogéneas.

En este trabajo se propone un método simple para la corrección de estos artefactos, basado en la idea del método clásico de linealización. Entre las ventajas que presenta este método se encuentran el no requerir una calibración previa, ni conocimiento del espectro ni modificaciones del hardware a diferencia de métodos propuestos anteriormente.

La evaluación preliminar, realizada en simulaciones, muestra una corrección del 89 % en tejido blando y 98 % en hueso de los dos tipos de artefacto.

1. Introducción

El origen del endurecimiento de haz en tomografía computarizada reside en la naturaleza policromática de los rayos X. Se define como el proceso mediante el cual la energía media del haz de rayos X aumenta al atravesar un material debido a que los fotones con menor energía son preferentemente absorbidos. Este efecto produce, principalmente, dos artefactos en la imagen reconstruida: *cupping* en regiones homogéneas y bandas entre zonas más densas en regiones heterogéneas [1].

En la literatura se encuentran múltiples esquemas de corrección. Normalmente se suele pre-endurecer el rayo a través de un filtrado físico [2] pero esto es insuficiente para eliminar los artefactos. El método usado en la mayoría de escáneres comerciales es la linealización, en el que se asume que el objeto es homogéneo consiguiendo únicamente corregir el artefacto de *cupping* [2].

Existen varios esquemas de corrección post-proceso que corrigen ambos artefactos. En el método propuesto por Nalcioglu et al. [3] la corrección se basa en el conocimiento del espectro junto con la estimación de los valores atravesados de tejido blando y hueso. Joseph et al. [4] elimina la necesidad de conocer el espectro a través de un método basado en un modelo no lineal en la que es necesaria la estimación de la cantidad de hueso atravesado en una reconstrucción preliminar. Sin embargo, el modelo requiere el cálculo empírico de dos parámetros que pueden

variar con la estructura del objeto y los parámetros de la fuente. En [5] se propone un algoritmo en el que estos parámetros son calculados automáticamente y en [6] un nuevo método donde no es necesaria la segmentación previa ni el cálculo de estos parámetros, basándose en la combinación lineal de imágenes base extraídas a partir de la transformación del histograma. Sin embargo, estos métodos están basados en la asunción de que el objeto está compuesto por zonas homogéneas lo que puede resultar en una reducción del contraste del tejido blando.

Recientemente, presentamos un nuevo método para la corrección tanto de *bandas* como de *cupping* basado en el método de linealización a través de una calibración previa con un maniquí formado por materiales equivalentes al tejido blando y al hueso [7]. Siguiendo esta misma línea, en este trabajo se presenta un nuevo método que elimina la etapa previa de calibración usando la información de la propia muestra.

2. Materiales y métodos

La relación entre la intensidad incidente y transmitida de los rayos X a través de un material viene determinada por la ley de Beer-Lambert:

$$I = I_0 \exp(-\int_x \mu dx) \quad (1)$$

donde I_0 es la intensidad incidente, μ el coeficiente de atenuación del material atravesado, x la trayectoria seguida por el rayo. A partir de esta relación, se deduce que el mapa de atenuación μL , donde L es el espesor atravesado por el rayo, es inversamente proporcional al espesor atravesado:

$$\ln\left(\frac{I_0}{I}\right) = \int_x \mu dx = \mu L = F_{IDEAL} \quad (2)$$

Donde F_{IDEAL} es la recta que representa la dependencia de la atenuación con el espesor atravesado. Sin embargo, como el espectro de rayos X es policromático, aparece una dependencia con la energía y la ecuaciones (1) y (2) deben ser reescrita de la forma:

$$I = \int I_0(\epsilon) \exp(-\int_x \mu(\epsilon) dx) d\epsilon \quad (3)$$

$$\ln\left(\frac{I}{I_0}\right) = \ln\left[\frac{\int I_0(\epsilon) d\epsilon}{\int I_0(\epsilon) e^{-\mu(\epsilon)L} d\epsilon}\right] = F_{EH}(L) \quad (4)$$

donde F_{EH} es la función de endurecimiento de haz. El método de linealización se basa en la correspondencia de

F_{EH} y F_{IDEAL} considerando el objeto compuesto solo de tejido blando (TB), y corrigiendo solo *cupping*. Para la corrección de bandas es necesario añadir el hueso (H) en la función, reescribiendo las ecuaciones (2) y (4):

$$F_{IDEAL} = \mu_H L_H + \mu_{TB} L_{TB} \quad (5)$$

$$F_{EH}(L_H, L_{TB}) = \ln \left[\frac{\int I_0(\epsilon) d\epsilon}{\int I_0(\epsilon) e^{-(\mu_H(\epsilon)L_H + \mu_{TB}(\epsilon)L_{TB})} d\epsilon} \right] \quad (6)$$

Donde L_i es el espesor atravesado por cada material y $\mu_i(\epsilon)$ su coeficiente de atenuación.

La figura 1 muestra el flujo de trabajo del algoritmo propuesto.

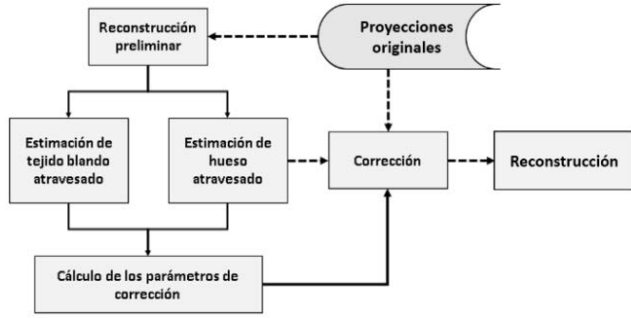


Figura 1. Flujo de trabajo del algoritmo

En el primer paso se estiman los espesores atravesados en tejido blando y hueso. Para ello es necesario realizar una reconstrucción preliminar, segmentar los dos tejidos y proyectar sus máscaras por separado.

La obtención empírica de $F_{EH}(L_{TB}, L_H)$ viene determinada a partir de la correspondencia de los espesores atravesados de tejido blando y hueso, como ejes x y y , y el valor en las proyecciones originales, como eje z . La función ideal F_{IDEAL} viene determinada por el plano tangente a los primeros puntos de F_{EH} . Sin embargo, no es posible obtener todas las muestras de la función F_{EH} siendo necesario la realización de una extrapolación (Figura 2, derecha), que nos permite obtener los primeros puntos para hallar la F_{IDEAL} .

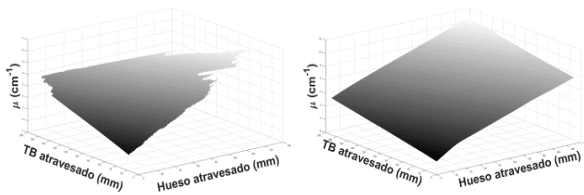


Figura 2. Función de endurecimiento de haz adquirida (izquierda) y extrapolada (derecha)

La corrección se basa en la sustitución de los valores de la función F_{EH} con los de F_{IDEAL} . La función que relaciona ambas funciones se ajusta al siguiente polinomio de segundo grado:

$$T(L_{TB}, L_H) = a + b * L_{TB} + c * L_H + d * L_{TB}^2 + e * L_H^2 + f * L_{TB} L_H \quad (7)$$

Sin embargo, la función T de linealización no es inyectiva, por tanto no es posible obtener un valor de corrección único para cada valor sin corrección. Para solucionarlo se elimina la dimensión correspondiente al hueso de la función F_{EH} ,

utilizando la estimación atravesada calculada anteriormente. Se construye una *look-up table* en la que para cada espesor de hueso atravesado se almacena una función de linealización dada por la expresión:

$$T_{Hueso_i} = a * p_i^2 + b * p_i + c \quad (8)$$

Finalmente, las proyecciones originales son corregidas aplicando la función de linealización para cada cantidad de hueso atravesado.

Evaluación

Para la evaluación preliminar se ha utilizado un atlas 3D de ratón (<http://neuroimage.usc.edu/neuro/Digimouse>), caracterizado por cuatro densidades de hueso y tejido blando diferente. Los coeficientes de atenuación de masa de cada material han sido extraídos del *National Institute of Standard and Technology* (NIST).

Se ha reproducido un sistema de pequeño animal *cone beam* con la geometría descrita en la Figura 3 usando la herramienta de simulación basada en GPU *FUX-Sim* [8]. El espectro de 45 kVp con un filtrado de 2 mm se ha simulado siguiendo el modelo TASMIP [9].

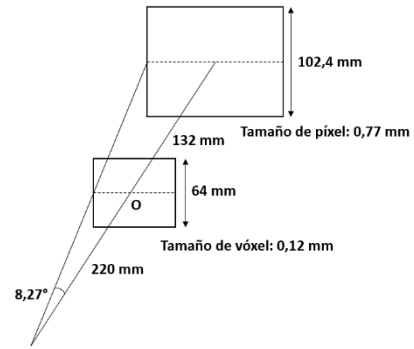


Figura 3. Geometría del escáner utilizado

La evaluación cuantitativa se basa en los perfiles descritos en la Figura 4 y en el error cuadrático medio (ECM) con respecto a una reconstrucción monocromática. Se calcula el porcentaje de mejora con la siguiente expresión:

$$P_{mejora}(\%) = \frac{ECM_{real} - ECM_{corregido}}{ECM_{real}} \times 100$$

Donde ECM_{real} es el error de la imagen artefactada y $ECM_{corregido}$ el error de la imagen corregida.

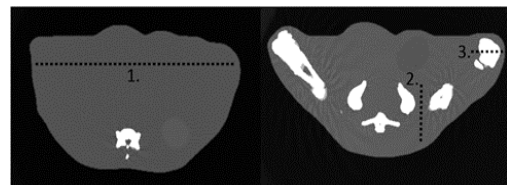


Figura 4. Perfiles a evaluar

3. Resultados

La Figura 5 muestra un corte axial de la imagen policromática del ratón antes y después de la corrección con el nivel y ventana adecuados para una mejor visualización de los artefactos. En ella se observa la eliminación de las bandas entre huesos.

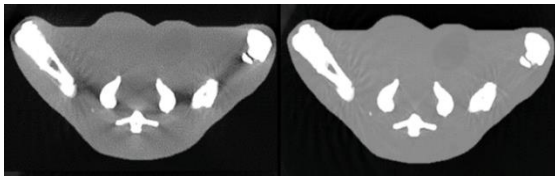


Figura 5. Corte axial de la reconstrucción policromática no corregida (izquierda) y corregida (derecha)

Los perfiles de la Figura 6 muestran como los valores de hueso son restaurados completamente y los valores de corrección de *cupping* y bandas se asemejan a los ideales. El porcentaje de mejora fue de un 89,3% en tejido blando y un 98,7% en hueso.

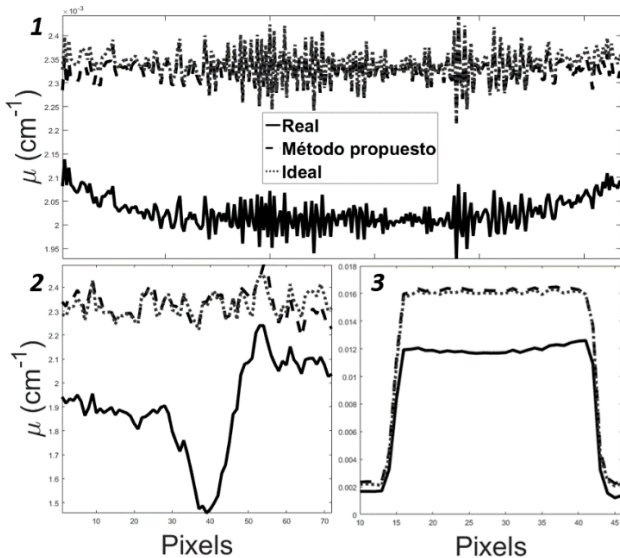


Figura 6. Perfiles correspondientes a la corrección de *cupping* (1), corrección de bandas (2) y restauración del hueso (3)

4. Discusión

En este trabajo se propone un nuevo método para la corrección de los artefactos producidos por el efecto de endurecimiento de haz en tomografía computarizada. El método está basado en el algoritmo de linealización extendido a dos materiales. Se elimina la etapa de calibración previa, característica de este método, usando la información de la propia muestra, para lo que es necesario la segmentación del tejido blando y del hueso.

Los resultados preliminares muestran la viabilidad de la propuesta, con un porcentaje de mejora con un 89.3 % en tejido blando y un 98.7 % en hueso.

Generalmente, la caracterización del endurecimiento de haz se basa en la utilización de materiales que emulan el comportamiento de hueso y tejido blando ante los rayos X. Tanto el PMMA como el agua presentan un comportamiento muy similar al tejido blando; sin embargo, resulta más difícil encontrar un material equivalente al hueso, encontrando varias alternativas en la literatura como teflón, aluminio o diferentes concentraciones de iopamidol. En el método descrito en este trabajo, esta caracterización se hace de manera intrínseca a partir del propio tejido blando y hueso de la muestra, eliminando este problema.

La adaptación del método propuesto a diferentes sistemas TAC, tipos de estudios o parámetros de la fuente es directa, debido a que se basa únicamente en los datos adquiridos. Por ello, a diferencia de otros métodos, no es necesario el conocimiento del espectro ni la calibración periódica con maniqués para diferentes espectros de emisión.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación (proyectos IPT-2012-0401-300000, TEC2011-28972-C02-01, TEC2013-48251-C2-1-R, and TEC2013 47270-R)

Referencias

- [1] J. F. Barrett and N. Keat, "Artifacts in CT: Recognition and Avoidance," *RadioGraphics*, vol. 24, no. 6, pp. 1679–1691, Nov. 2004.
- [2] R. A. Brooks and G. D. Chiro, "Beam hardening in X-ray reconstructive tomography," *Phys. Med. Biol.*, vol. 21, no. 3, p. 390, 1976.
- [3] O. Nalcioglu and R. Y. Lou, "Post-reconstruction method for beam hardening in computerised tomography," *Phys. Med. Biol.*, vol. 24, no. 2, p. 330, 1979.
- [4] P. M. Joseph and R. D. Spital, "A method for correcting bone induced artifacts in computed tomography scanners," *J. Comput. Assist. Tomogr.*, vol. 2, no. 1, pp. 100–108, Jan. 1978.
- [5] Y. Kyriakou, E. Meyer, D. Prell, and M. Kachelrieß, "Empirical beam hardening correction (EBHC) for CT," *Med. Phys.*, vol. 37, no. 10, pp. 5179–5187, Oct. 2010.
- [6] S. Schüller, S. Sawall, K. Stannigel, M. Hülsbusch, J. Ulrici, E. Hell, and M. Kachelrieß, "Segmentation-free empirical beam hardening correction for CT," *Med. Phys.*, vol. 42, no. 2, pp. 794–803, Feb. 2015.
- [7] C. Martinez, C. De Molina, M. Desco, and M. Abella, "Simple method for beam-hardening correction based on a 2D linearization function," presented at the 4th International Conference on Image Formation in X-Ray Computed Tomography, Bamberg, Germany, July, 2016, conference.
- [8] E. Serrano, Javier Garcia Blas, C. de Molina, M. Desco, and M. Abella, "Design and Evaluation of a Parallel and Multi-Platform Cone-Beam X-Ray Simulation Framework," presented at the 4th International Conference on Image Formation in X-Ray Computed Tomography, Bamberg, Germany, July, 2016, conference.
- [9] J. H. Siewerdsen, A. M. Waese, D. J. Moseley, S. Richard, and D. A. Jaffray, "Spektr: A computational tool for x-ray spectral analysis and imaging system optimization," *Med. Phys.*, vol. 31, no. 11, pp. 3057–3067, Nov. 2004.

Harmonic Auto-Regularization for Non Rigid Groupwise Registration in Cardiac Magnetic Resonance Imaging

S. Sanz-Estébanez¹, J. Royuela-del-Val¹, T. Sevilla², A. Revilla-Orodea²,
S. Aja-Fernández¹, C. Alberola-López¹

¹ Laboratorio de Procesado de Imagen (LPI), Universidad de Valladolid

² Instituto de Ciencias del Corazón (ICICOR). Hospital Clínico Universitario de Valladolid.

Abstract

In this paper we present a new approach for non rigid groupwise registration of cardiac magnetic resonance images by means of free-form deformations, imposing a prior harmonic deformation assumption. The procedure proposes a primal-dual framework for solving an equality constrained minimization problem, which allows an automatic estimate of the trade-off between image fidelity and the Laplacian smoothness terms for each iteration. The method has been applied to both a 4D extended cardio-torso phantom and to a set of voluntary patients. The accuracy of the method has been measured for the synthetic experiment as the difference in modulus between the estimated displacement field and the ground truth; as for the real data, we have calculated the Dice coefficient between the contour manual delineations provided by two cardiologists at end systolic phase and those provided by them at end diastolic phase and, consequently propagated by the registration algorithm to the systolic instant. The automatic procedure turns out to be competitive in motion compensation with other methods even though their parameters have been previously set for optimal performance in different scenarios.

1 Introduction

Image registration, to put it short, is concerned with the search of an optimal transformation for the alignment of at least two images. It has many applications in imaging, such as fusion of image information [1], material points tracking [2], atlas construction [3], or object-based interpolation of contiguous slices [4]. As for the groupwise registration problem, it may be posed as finding a spatial transformation τ so that every point in each image is matched to a point in a reference image that is built out of the whole image set to be registered; the transformation is found as the minimization in the space of possible transformations of an energy function H , i.e., the registration looks for the optimal transformation that satisfies $\tau^* = \underset{\tau}{\operatorname{argmin}} H(\tau)$.

The energy function associated to the transformation comprises two competing goals. The first term represents the cost associated with the image similarity (i.e., the data fidelity term). Examples of common voxel-based similarity measures are cross correlation [5], mutual information [6] or mean squared differences, which have proved their usefulness either in monomodal or multimodal image alignment problems. On the other hand, the second term corresponds to the cost associated to the smoothness of the

transformation. Most common smoothness terms try to favour those solutions in which the first or second-order derivatives of the displacement field tend to zero (membrane or plate-like solutions) [7, 8] or can be based on a biomechanical model of deformation [9].

An incorrect use of the smoothness term could result in unrealistic transformations; therefore, a proper set of additional constraints that assures certain properties such as continuity or differentiability should be introduced in the problem for a correct definition. Therefore, a parameter λ is often introduced as a trade-off between data fidelity and transformation smoothness. Clearly, this parameter will play a major role in the final result, so it should be set beforehand on the basis of some optimality conditions, requiring some fine tuning to estimate the optimal value. This is a time consuming process that may have to be repeated according to acquisition protocol, type of pathology, etc.

In this paper, we have developed an extension of the framework presented in [10] for its application to non-rigid registration of cardiac magnetic resonance imaging (MRI), that combines the advantages of voxel-based monomodal measures, such as mean squared differences, with a non rigid transformation model described by free-form deformations (FFD) based on B-splines [11], in which the trade-off between the data fidelity term, related to the monomodal metric, and the regularization term, related to the smoothness of transformation, is automatically set due to an harmonic constraint term.

2 Materials and Methods

2.1 Materials

For the validation of the proposed approach, a synthetic experiment has been carried out using a simulation environment based on the 4D digital extended cardio-torso (XCAT) phantom [12]. The phantom consists of a whole body model that contains high level detailed anatomical labels, which feed a high resolution image synthesis procedure, providing different modalities such as CT, MRI and PET. The 4D XCAT phantom incorporates state of the art respiratory and cardiac mechanics, which provide

sufficient flexibility to simulate cardio-torso motion from user-defined parameters. Therefore, the phantom provides us not only with the images themselves, but also with a ground-truth displacement field.

Additionally, we have performed cardiac studies in a population of 74 subjects, 46 of which are affected by primary or secondary forms of hypertrophic cardiomyopathy (HCM) [13] and a control group that consists of 28 healthy volunteers. A short axis (SA) SENSitivity Encoding (SENSE) balanced Turbo Field Echo MR-Cine sequence has been acquired on a Philips Achieva 3T scanner for each patient, where the myocardium contours have been manually traced by two cardiologists at end-diastole (ED) and end-systole (ES) phases. The latter will be taken as ground truth for the experiments described in section 3 on real images. Acquisition and resolution details for these experiments are shown in Table 1.

Parameters	XCAT	MR-Cine
Δ_p	1	0.96-1.18
Δ_l	8	8
N_p	256	240-320
N_t	20	30
N_s	16	10-15
T_R	3	2.9-3.918
T_E	1.5	1.45-2.22
α	60	45
Card.	1	~ 1
Resp.	5	Navig.

Table 1. Details on the image sequences used in the paper. Δ_p : Spatial Resolution (mm). Δ_l : Slice Thickness (mm). N_p : Number of pixels along each direction. N_t : Number of Temporal Phases. N_s : Number of slices. T_R : Repetition Time (ms). T_E : Echo Time (ms). α : Flip Angle ($^\circ$). Card.: Cardiac Period (s). Resp.: Respiratory Period (s).

2.2 Methods

The proposed method has been applied to the groupwise registration of two-dimensional cardiac MR-Cine acquisitions and, specifically, for contour propagation at different cardiac phases. Many potential uses of this procedure can be considered, such as motion compensated compressed sensing accelerated reconstruction [14].

Bearing in mind the aforementioned application, the local transformation τ is represented as a combination of B-spline FFDs. Bilinear interpolation is used to obtain the intensity of the deformed MR-Cine images on a rectilinear grid [15]. A gradient-descent optimization scheme is performed, where the step size is updated according to the variation in the registration metric. The sum of the squared differences of the image intensity, over a region of interest (ROI) denoted as χ , is used as the registration metric as follows:

$$H(\tau) = \int_{\chi} \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N \left(I_n(\mathbf{x}, \tau_n) - \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N I_{n'}(\mathbf{x}, \tau_{n'}) \right) d\mathbf{x} \quad (1)$$

In general, the local deformation of cardiac tissue should be characterized by a smooth transformation. To constrain the spline-based FFD transformation to be smooth, a penalty term which regularizes the transformation is introduced. We have resorted to harmonic regulation, i.e., $\nabla^2(\tau) = 0$; in computer vision, the Laplacian operator has been used for various tasks such as blob and edge detection [16] and its quantity determines the density of the gradient flow of the displacement field, which is associated with the smoothness of the transformation.

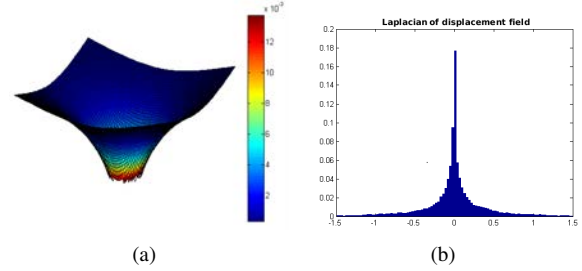


Figure 1. The figure on the left shows an example of Laplacian field coloured by its first order smoothness. The figure on the right shows the histogram of the components of the Laplacian of the transformation in a medial slice of a healthy volunteer.

An harmonic constraint seems acceptable for cardiac motion compensation, as non-regularized solutions, as shown in Figure 1(b), present a noticeable tendency towards harmonic fields. Therefore, it should provide an appropriate level of smoothness over the transformation so as to avoid registration artifacts. With such constraints, the minimization problem would be formulated as:

$$\text{minimize } H(\tau) \quad \text{subject to } \nabla^2(\tau) = 0. \quad (2)$$

Introducing the primal-dual framework [10], we can consider the quadratic penalty problem associated with (2) as:

$$\text{minimize } H(\tau) + \frac{\lambda}{2} \|\nabla^2(\tau)\|^2. \quad (3)$$

Imposing the first order necessary optimality condition (null gradient), this problem can be posed as:

$$\nabla H(\tau) + \lambda A(\tau)^T \nabla^2(\tau) = 0, \quad (4)$$

where $A(\tau)$ is the Jacobian matrix of vector $\nabla^2(\tau)$.

These conditions can be rewritten under the form:

$$F(\tau, y, \mu) = \begin{pmatrix} \nabla H(\tau) + A(\tau)^T y \\ \nabla^2(\tau) - \mu y \end{pmatrix} = 0, \quad (5)$$

where y is a vector of Lagrangian multipliers and μ is inversely related with λ , used for notation convenience.

The equation (5) implicitly defines a trajectory for μ such that $\tau(\mu \rightarrow 0) = \tau^*$ and $F(\tau(\mu), y(\mu), \mu) = 0$ for sufficiently small values of μ . Now, we can apply a Newton-like method to equation (5) to obtain a sequence that makes μ tend to 0. The linearization of (5) at the current iterate (τ_k, y_k, μ_k) provides an updating for these variables (also λ) that can be extracted from the following linear system:

$$J(\Delta\tau, \Delta y, \mu_k) + \frac{\partial F(\tau_k, y_k, \mu_k)}{\partial \mu} \Delta\mu = -F(\tau_k, y_k, \mu_k), \quad (6)$$

where Δ represents the iterative increment of the variable, such as $\Delta y = y_{k+1} - y_k$ and J is the Jacobian matrix of the function F at k -iteration, or an approximation to it.

With such a design, the value of λ would increase as $\mu \rightarrow 0$ until registration converges; therefore, first iterations will let the transformation evolve unsmoothly until the harmonic regularization term becomes dominant owing to λ .

3 Results

In this Section, we test the accuracy of our automated regularization method in comparison with other methods that use a previously-set non-variable λ parameter. The latter methods are two, namely, one that considers first-order regularization both in the spatial and the temporal dimension, as in [7], and a second one which uses harmonic regularization, as we do, but with a unique λ that is set before the optimization takes place.

We have carried out a synthetic experiment with the data provided by the XCAT phantom on which we have measured the error of the estimation of cardiac displacement field (on a previously defined ROI). The optimal λ parameters for the whole myocardium have been empirically set to $\lambda = 0.007$ for the harmonic regularization and $\lambda_s = 0.3$ (spatial) and $\lambda_t = 0.1$ (temporal) for the first-order regularization; those parameters have provided the best results by visual inspection.

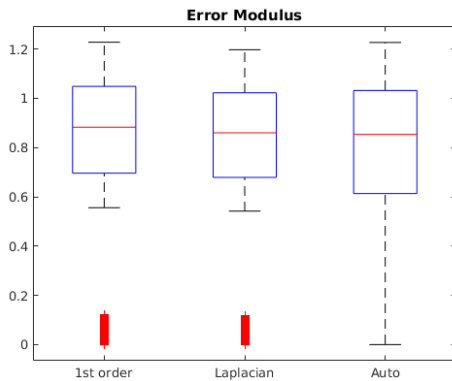


Figure 2. Boxplot diagrams of error modulus in mm for estimated displacement field at myocardial points.

In Figure 2 we show the boxplot diagrams of the distributions of the differences in modulus between the estimated 2-D displacement field and the ground-truth as a measure of accuracy. Accuracy for all these methods seems suitable for motion estimation as in most myocardial points error is lower than pixel resolution. Nevertheless, the automated procedure gives comparable results with the other two; specifically, no significant differences were found between these methods either in displacement error measures or in overlapping indices (Dice coefficient [17]) measured from the propagated segmentations.

In addition, for the real data we have tested the ability of the aforementioned procedures to propagate the manual segmentations (at ED phase) throughout the cardiac cycle. In this experiment, we have performed a quantitative analysis of the overlapping using the Dice coefficient between

the propagated segmentations and the ground-truth at ES phase for each patient. As for the choice of λ , we have made a distinction between HCM and healthy cases, since this pathology greatly affects the characteristics of cardiac motion [13]; for each group this parameter has been set by visual inspection on a representative patient and then we have used this value for the remaining patients of the group. This is due to the fact that for all them the acquisition protocol has remained unchanged; in addition, the registration procedure has been run on a medial slice, where variability is much lower than in apical or basal slices.

In Figure 3 we show the boxplot diagrams of the Dice coefficient obtained from the aforementioned non variable methods with optimal settings and our automated regularization proposal. The optimal λ parameters for the harmonic regularization method were $\lambda = 0.2$ for HCM patients and $\lambda = 0.5$ for the control group, while for the first order regularization method; $\lambda_s = 1, \lambda_t = 3$ for HCM patients and $\lambda_s = 3, \lambda_t = 8$ for the control group [15].

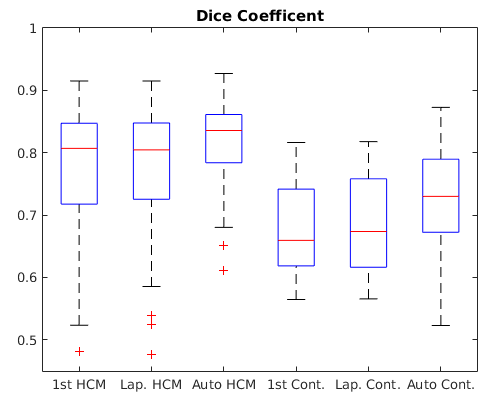


Figure 3. Boxplot diagrams of Dice Coefficient distributions of propagated segmentations to ES and ground-truth segmentations.

As observed in Figure 3, the automated procedure shows a considerable improvement in terms of overlapping compared with the other two methods, both for HCM patients and healthy volunteers, even though λ has been selected *ad-hoc* for each group. Mann-Whitney U-tests have been performed on the Dice coefficient distributions, finding significant improvements when using the auto-regularization method both over first order regularization ($p = 0,0254$ for HCM and $p = 0,042$ for controls) and harmonic regularization methods ($p = 0,0351$ for HCM and $p = 0,0512$ for control groups). These results highlight that a proper criterion of accommodation of the regularization parameter may enhance the development of registration algorithms in comparison with fixed, albeit optimal, parameters.

Furthermore, better performance figures are obtained for HCM patients in comparison with those from controls; in our opinion, this may be due to the fact that this particular pathology implies a loss of the myocardial functionalities leading into myocardial thickening, specially in the septum, as well as to a significant reduction of cardiac deformation [13]; this combined effects seem to ease motion compensation and segmentation propagation and, conse-

quently, improving overlap indexes.

4 Conclusions and Future Work

We have presented an image processing methodology for non-rigid registration of cardiac MRI based on a primal-dual framework with harmonic constrained minimization that iteratively calculates the trade-off between the two terms involved in the problem. This methodology combined with the use of simple registration metrics under the groupwise paradigm has proven to be reliable in the propagation of manual segmentations through the cardiac cycle and accurate in the estimation of cardiac displacement fields, being useful as a motion compensation technique.

The automated procedure for the update of weighting parameters has been successfully tested in different scenarios with different grades of regularization requirements, significantly improving the performance obtained with optimized fixed weighting parameters procedures.

Finally, more complicated multimodal metrics, such as the one proposed in [18], could help to perform topology preserving registration in highly artifacted images, such as the typically observed in echo planar abdominal diffusion acquisitions.

5 Acknowledgments

This work was partially supported by the Spanish Ministerio de Ciencia e Innovación under Research Grant TEC2013-44194-P, the European Regional Development Fund (ERDF-FEDER) under Research Grant TEC2014-57428-R and the Spanish Junta de Castilla y León under Grant VA069U16.

References

- [1] L. Cordero-Grande, S. Merino-Caviedes, X. Albà, RM. Figueras i Ventura, AF. Frangi, and C. Alberola-López. 3D Fusion of Cine and Late-Enhanced Cardiac Magnetic Resonance Images. In *9th IEEE ISBI*, pages 286–289, Barcelona, Spain, 2012.
- [2] MJ. Ledesma-Carbayo, A. Bajo, C. Santa-Marta, E. Perez-David, I. Caso, MA. Garcia-Fernandez, A. Santos, and M. Desco. Cardiac Motion Analysis from Cine MR Sequences Using Non-Rigid Registration Techniques. In *Computers in Cardiology*, pages 520–523, Valencia, Spain, 2006.
- [3] GG. Fonseca, M. Backhaus, DA. Bluemke, RD. Britten, JD. Chun, BR. Cowan, ID. Dinov, JP. Finn, PJ. Hunter, AH. Kadish, DC. Lee, JAC. Lima, P. Medrano-Gracia, K. Shivkumar, A. Suinesiaputra, and AA. Young. The Cardiac Atlas Project: An imaging database for computational modeling and statistical atlases of the heart. *Bioinformatics*, 27, 2011.
- [4] L. Cordero-Grande, G. Vegas-Sánchez-Ferrero, P. Casaseca-de-la-Higuera, and C. Alberola-López. A Markov Random Field Approach for Topology-Preserving Registration: Application to Object-Based Tomographic Image Interpolation. *IEEE Trans. On Image Proc.*, 21:2047 – 2061, 2012.
- [5] BB. Avants, CL. Epstein, M. Grossman, and JC. Geel. Symmetric Diffeomorphic Image Registration with Cross-Correlation: Evaluating Automated Labeling of Elderly and Neurodegenerative Brain. *Med. Image Anal.*, 12:26–41, 2008.
- [6] D. Mattes, DR. Haynor, H. Vesselle, T. Lewellen, and W. Eubank. Non-rigid multimodality image registration. *Med. Imag. 2001: Image Proc.*, 4322:1609–1620, 2001.
- [7] D. Rueckert, LI. Sonoda, C. Hayes, DLG. Hill, MO. Leach, and DJ. Hawkes. Nonrigid Registration using Free-Form Deformations: Application to breast MR images. *IEEE Trans. Med. Imag.*, 18:712–721, 1999.
- [8] MJ. Ledesma-Carbayo, JA. Derbyshire, S. Sampath, A. Santos, M. Desco, and ER. McVeigh. Unsupervised Estimation of Myocardial Displacement From Tagged MR Sequences Using Nonrigid Registration. *Magnetic Resonance in Medicine*, 59:181–189, 2006.
- [9] N. Tustison and B. Avants. Explicit B-spline regularization in diffeomorphic image registration. *Frontiers in Neuroinformatics*, 7:39, 2013.
- [10] P. Armand, J. Benoist, R. Omhenni, and V. Pateloup. Study of a primal-dual algorithm for equality constrained minimization. *Computational Optimization and Applications*, 59:405–433, 2014.
- [11] D. Rueckert, P. Aljabar, RA. Heckemann, JV. Hajnal, and A. Hammers. Diffeomorphic registration using b-splines. *MICCAI 2006*, 4191:702–709, 2006.
- [12] WP. Segars, G. Sturgeon, S. Mendonca, J. Grimes, and BMW. Tsui. 4D XCAT phantom for multimodality imaging research. *Medical Physics*, 37:4902–4915, 2010.
- [13] BJ. Baron. The 2006 American Heart Association Classification of Cardiomyopathies Is the Gold Standard. *Circ. Heart Fail.*, 1:72–76, 2008.
- [14] J. Royuela-del-Val, L. Cordero-Grande, F. Simmross-Wattenberg, M. Martín-Fernández, and C. Alberola-López. Jacobian Weighted Temporal Total Variation for Motion Compensated Compressed Sensing Reconstruction of Dynamic MRI. *Magnetic Resonance in Medicine*, 2016.
- [15] S. Sanz-Estébanez. Esquema de compensación de movimiento mediante registrado grupal aplicado a imagen cardiaca dinámica. Master's thesis, Universidad de Valladolid, Spain, 2014.
- [16] D. Marr and E. Hildreth. Theory of Edge Detection. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 207:187–217, 1980.
- [17] LR. Dice. Measures of the Amount of Ecologic Association Between Species. *Ecology*, 26:297–302, 1945.
- [18] L. Cordero-Grande, S. Merino-Caviedes, S. Aja-Fernández, and C. Alberola-López. Groupwise elastic registration by a new sparsity-promoting metric: application to the alignment of cardiac magnetic resonance perfusion images. *IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell.*, 35:2638–2650, 2013.

Segmentación automática de la excavación en retinografías basada en gradientes de color y clasificador Complex Tree

A. García Noguer¹, I. Fondón García¹

¹ Dpto. de Teoría de la Señal y Comunicaciones, E.T.S. de Ingeniería, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, {anagarnog, irenef}@us.es

Resumen

*El glaucoma es una enfermedad ocular que constituye la segunda causa de ceguera en el mundo. Aunque no tiene cura, si es detectada y tratada a tiempo su avance puede prevenirse. Para realizar el diagnóstico de esta enfermedad, los oftalmólogos se basan en la evaluación visual de imágenes de fondo de ojo o retinografías, intentando calcular de la forma más precisa la relación existente entre dos áreas: la del disco óptico y la de la excavación. En este artículo presentamos un algoritmo automático para la segmentación de esta última zona. El método calcula gradientes de color en el espacio CIE $L^*a^*b^*$ y construye un vector de características que sirve de entrada a un clasificador Complex Tree (árbol de decisión complejo). Como resultado se obtienen los píxeles que pertenecen al borde de la excavación. Para evaluar la eficiencia de la herramienta se han utilizado 100 imágenes extraídas de 7 bases de datos públicas: 30 para el entrenamiento y 70 para las pruebas, obteniéndose una precisión del 97.25% junto con una sensibilidad del 90.65%.*

1. Introducción

El diagnóstico y tratamiento del glaucoma constituye uno de los mayores retos del siglo XXI. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) [1], esta enfermedad es una de las tres mayores causas de ceguera, estimándose que 80 millones de personas están afectadas por ella hoy en día y que aproximadamente 6 millones están ciegas debido a la enfermedad, lo que constituye un 12.3% del total de los casos de ceguera [1].

Uno de los indicadores de glaucoma adoptado generalmente en la práctica clínica es la llamada relación CDR (Cup to Disk Ratio), es decir, la relación de áreas entre la zona correspondiente al disco óptico y la llamada excavación. El disco óptico contiene fibras nerviosas mientras que la excavación es la zona interior al propio disco sin ninguna fibra. La evolución de la enfermedad hace que la excavación aumente de tamaño con la progresiva muerte de fibras nerviosas. La relación entre el área de ambas regiones es clave en la detección de la enfermedad. El cálculo del CDR suele ser normalmente estimado por especialistas oftalmólogos de forma manual o calculado con sistemas basados en técnicas 3D que tienen un coste excesivo para su uso generalizado en sistemas de cribado [2]. Por tanto, el uso de una herramienta de ayuda al diagnóstico por ordenador que sea completamente automática, rápida y fiable, sería de gran utilidad para estos especialistas.

En el pasado se han propuesto una gran variedad de métodos para la detección del disco óptico [3-5]. Mientras que el número de artículos dedicados al cálculo del CDR

es significativamente inferior. Los métodos que se han presentado suelen basarse en el hecho de que los vasos sanguíneos se curvan en el borde de la excavación, proponiendo técnicas complejas de detección de puntos de curvatura máxima. Por otro lado, el aspecto brillante que suele presentar este área hace que gran cantidad de métodos intenten introducir información acerca del brillo o del color empleando, usualmente, espacios de color no adaptados a la percepción humana. Por ejemplo, uno de los espacios de color más utilizados es el RGB tanto en su totalidad, [6-8], como en combinaciones de uno o dos planos [9-10]. Cabe destacar el trabajo de Joshi [11-12], que presenta un método en el que la apariencia de la zona de la excavación en el plano R se combina con la detección de la curvatura de los vasos que atraviesan la región del disco óptico. Este mismo autor en [13] utiliza, sin embargo, el plano a^* de CIE $L^*a^*b^*$. El motivo alegado es que la región de la excavación presenta un aspecto continuo y bien contrastado con el fondo. Existe un método reciente [14] para segmentar la excavación que utiliza el plano J del espacio de color uniforme JCh, modelo de apariencia de color de CIECAM02 (Modelo de apariencia de color adaptado por CIE en 2002). El método propuesto en el artículo emplea el clasificador Random Forest junto la curvatura de los vasos para identificar píxeles pertenecientes al área de la excavación.

A la luz de los resultados obtenidos por los métodos del estado del arte se comprueba que el problema de la detección de la excavación sigue estando abierto. El uso de la información de color no es adecuado al emplearse espacios de color no adaptados a la percepción humana o, en el caso de que hacerlo, utilizando sólo uno de los planos del espacio de color. El procesado, en este caso, es equivalente al de escala de gris, perdiendo gran parte de la información de la imagen. Por otro lado, estos algoritmos necesitan técnicas complejas de detección de vasos y posterior cálculo de curvatura. Esto aumenta su complejidad y, por tanto, su tiempo de ejecución.

2. Método

Selección de la Región de Interés

Como paso inicial, el algoritmo selecciona una región de interés (ROI) de forma cuadrada que contiene al disco óptico. Para obtener la ROI se parte del centro óptico y se genera un cuadrado centrado en el mismo. El tamaño de esta región es un 7% del área total del fondo de ojo, restricción generalmente adoptada por otras técnicas del estado del arte [6,15] dado que se consigue una gran

reducción en el tiempo de procesado que no afecta a la calidad del resultado.

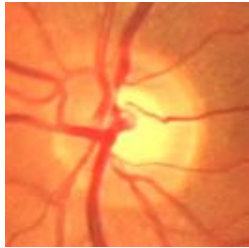


Figura 1. Resultado del recorte de la ROI.

Cálculo del gradiente de color

Para realizar el cálculo de los gradientes de color se ha seleccionado la distancia de color CIE94, que es eficiente para el cómputo de derivadas direccionales. Se utiliza una máscara Sobel en el espacio de color CIE L*a*b* y con CIE94 basándose en el trabajo de Serrano et al. [1, 8].

A pesar del hecho de que CIEDE2000 fue desarrollado para mejorar CIE94, algunos autores afirman que esta es una fórmula para pequeñas diferencias de color [16], y que, aunque la distancia CIEDE2000 se comporta ciertamente mejor que CIE94 para algunos conjuntos de datos, su complejidad añadida, probablemente, no está justificada en determinadas aplicaciones prácticas [17]. Además, Melgosa demuestra en su artículo [18] que la mejora de CIE94 sobre CIE L*a*b* es considerablemente mayor que la de CIEDE2000 sobre CIE94.

Se consideran las coordenadas de un píxel de la imagen (x, y) denotadas como:

$$a(x, y) = [L^*(x, y), a^*(x, y), b^*(x, y)] \quad (1)$$

Las derivadas pueden obtenerse restando dos vectores, el primero que contiene los coeficientes positivos de la máscara, V+, y el otro con los coeficientes negativos V-. Se presenta un ejemplo para el caso de 0° y para el caso de 45°.

a_1	a_2	a_3
a_4	a_5	a_6
a_7	a_8	a_9

Para 0°:

1	2	1
0	0	0
-1	-2	-1

$$V^+ = a_1 + 2a_2 + a_3 \quad (2)$$

$$V^- = -a_7 - 2a_8 - a_9 \quad (3)$$

Para 45°:

-2	-1	0
-1	0	1
0	1	2

$$V^+ = a_6 + a_8 + 2a_9 \quad (4)$$

$$V^- = -2a_1 - a_2 - a_4 \quad (5)$$

La distancia se obtiene como

$$v = \|\Delta E_{94}(V^+, V^-)\| \quad (6)$$

donde v es el valor de la norma de las diferencias de color de la imagen en el píxel en cuestión y $\Delta E_{94}(V^+, V^-)$ es la distancia de color CIE94 entre ambos vectores.

Para cada píxel se calcula el gradiente de color en 25 orientaciones diferentes obteniéndose, por tanto, 25 imágenes de gradiente por cada ROI. En la Figura 2 se presentan ejemplos de estas imágenes de gradiente obtenidas a partir de la ROI de la Figura 1 para (a) 15°, (b) 30°, (c) 45° y (d) 60°.

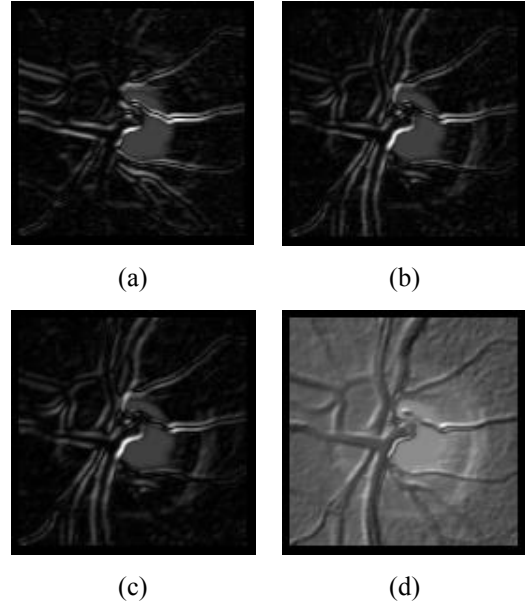


Figura 2. Algunos gradientes de color obtenidos para la ROI de la Figura 1.

Extracción de Características

Para cada píxel se construye un vector de características que contiene los 25 valores de gradiente correspondientes más otros datos como las componentes de color L^* , a^* y b^* del espacio CIE L*a*b, la distancia al centro del disco y el ángulo respecto al centro de la excavación del píxel en cuestión. Las ecuaciones usadas para el cálculo de la distancia y el ángulo son:

$$d = \sqrt{(i - \text{centrox})^2 + (j - \text{centroy})^2} \quad (7)$$

$$\theta = \arctan\left(\frac{\text{centroy}-j}{i-\text{centrox}}\right) \quad (8)$$

Siendo d la distancia al centro, θ el ángulo y $(\text{centrox}, \text{centroy})$ los valores de la posición (i, j) de la ROI en la que se encuentra el centro del excavación. Por último, se incluirá la información de la posición (i, j) del píxel en la imagen. Con toda esta información acerca del píxel, se construye un vector con 32 características:

- 25 valores de gradiente de color (1 por cada ángulo).
- 3 valores de color: L^* , a^* y b^* .
- 1 valor de distancia al centro.
- 1 valor del ángulo con respecto al centro.
- 2 valores de la posición (i, j) del píxel.

Clasificación

La clasificación, a nivel de píxel, se basa en tres categorías:

Clase 1: El píxel no pertenece ni al disco óptico, ni a la excavación.

Clase 2: El píxel pertenece al disco óptico pero no a la excavación.

Clase 3: El píxel pertenece exclusivamente a la excavación.

Como resultado de la clasificación obtenemos una matriz de probabilidades de pertenencia de cada píxel a cada clase. Siguiendo el método presentado en [19], la zona deseada se obtendrá seleccionando aquellos píxeles con mayor probabilidad de pertenecer a la excavación.

3. Resultados

Para evaluar la calidad de la técnica propuesta se han realizado dos experimentos empleando 100 imágenes (30 para entrenamiento y 70 para test) seleccionadas de entre 7 bases de datos públicas [14, 20-25] elegidas por su especial complejidad. El software que se ha empleado para la programación del algoritmo es MATLAB® R2015a.

Experimento 1: Selección del mejor clasificador

Se han entrenado y validado cinco clasificadores con los píxeles de las 30 imágenes de entrenamiento. Los clasificadores son: K-Nearest Neighbor (KNN) Fine y Medium [26], Support Vector Machine (SVM) Linear, Quadratic y Cubic [27], Simplex, Medium y Complex Tree [28], Bagged Tree [28] y AdaBoost Tree [28].

En la tabla 1, se muestra la probabilidad de acierto obtenida con cada uno de los clasificadores. Bagged Tree obtiene un 100% de probabilidad de acierto pero, su elevado tiempo de ejecución, entre 3 y 5 minutos, lo hace inadecuado para nuestras necesidades. Por este motivo se ha seleccionado finalmente el clasificador Complex Tree cuya calidad es equivalente, 99.1%, con un tiempo de ejecución medio de 0.5 segundos.

Experimento 2: Clasificación de las imágenes con Complex Tree

El segundo experimento consiste en una validación externa de la herramienta mediante la clasificación de los píxeles de las 70 imágenes restantes.

Para cuantificar la sensibilidad y la robustez del método propuesto se han realizado cálculos estadísticos, teniendo como verdad de referencia la segmentación manual de la excavación realizada por dos expertos médicos. En la Tabla 2 se muestran estos resultados. La calidad obtenida, superior al 85% en todos los parámetros calculados, validan la capacidad de la técnica para la detección automática de la excavación en imágenes de retina. En comparación con otras técnicas del estado del arte [6, 14] este método presenta una estructura significativamente más simple, no necesita detectar la curvatura de los vasos sanguíneos para segmentar la excavación. En la Figura 3 se pueden observar dos resultados de segmentación de la excavación tras la clasificación.

Clasificador	Probabilidad de acierto
SVM	49.1 %
KNN Fine	95.5%
KNN Medium	93.1%
Simple Tree	96.0%
Medium Tree	98.0%
Complex Tree	99.1%
Bagged Tree	100.0%
AdaBoost Tree	95.5%

Tabla 1. Precisión obtenida con distintos clasificadores.

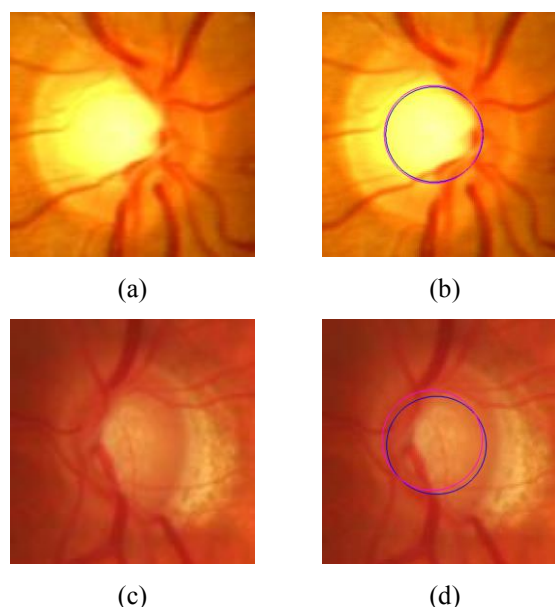


Figura 3. ROIs originales (a y c). Resultados de la segmentación de la excavación en azul (b y d). Verdad de referencia en color rosa.

Valor Estadístico	%
Especificidad	98.43
Valor Predictivo Positivo	88.37
Valor Predictivo Negativo	98.45
Precisión	97.25
Sensibilidad	90.65

Tabla 2. Resultados obtenidos por el algoritmo.

4. Conclusiones y líneas futuras

Este artículo presenta una técnica de segmentación de la excavación en imágenes de fondo de ojo basada en gradientes de color y clasificador Complex Tree. Cabe destacar su capacidad para segmentar excavaciones de distinta apariencia proporcionando un resultado óptimo en imágenes con excavación casi inexistente. La robustez del

algoritmo se demostró mediante la validación externa del método en una base de 70 retinografías de elevada dificultad, obteniéndose una precisión de 97,25%.

Referencias

- [1] I. Fondón, C. Serrano, B. Acha and S. Jiménez, Automated Cup-to-Disc Ratio Estimation for Glaucoma Diagnosis in Retinal Fundus Images, Image Analysis and Modeling in Ophthalmology, CRC Press, 2014.
- [2] Eddie Y. K. Ng, U. Rajendra Acharya, Jasjit S. Suri, Aurelio Campilho, "Image Analysis and Modeling in Ophthalmology", CRC Press, February 11, 2014
- [3] D.W.K Wong, J. Liu, J.H. Lim, N.M. Tan, Z. Zhang, S. Lu, H. Li, M.H. Teo, K.L. Chan and T.Y. Wong. "Intelligent fusion of cup-to-disc ratio determination methods for glaucoma detection in ARGALI", in Annu. Int. Conf. IEEE Eng. in Medicine and Biology Society, 2009, p. 5777-5780.
- [4] G.D. Joshi, J. Sivaswamy and S.R. Krishnadas, "Optic Disk and Cup Segmentation From Monocular Color Retinal Images for Glaucoma Assessment", IEEE Trans. on Medical Imaging, vol. 30, no 6, 2011, p. 1192-1205.
- [5] I. Fondón, F. Núñez, M. Tirado, S. Jiménez, P. Alemany, Q. Abbas, C. Serrano and B. Acha, "Automatic cup-to-disc ratio estimation using active contours and color clustering in fundus images for glaucoma diagnosis", Lecture Notes in Computer Science 7325, 2012, p. 390-399.
- [6] J. Liu, D. Wong, J. Lim, H. Li, N. Tan, Z. Zhang, T. Wong y R. Lavanya, «ARGALI: An Automatic Cup-to-Disc Ratio Measurement System for Glaucoma Analysis Using Level-set Image Processing», *IFMBE Proceedings*, vol. 23, pp. 559-562.
- [7] G. D. Joshi, J. Sivaswamy y S. R. Krishnadas, «Depth Discontinuity-Based Cup Segmentation From Multiview Color Retinal Image», *IEEE Trans. on Biomedical Eng.*, vol. 59, n° 6, pp. 1523-1531, 2012
- [8] M. Madhusudhan, N. Malay y S. N. a. D. Samerendra, «Image processing techniques for glaucoma detection», *Advances in Computing and Communications*, vol. 192, n° 3, pp. 365-373., 2011.
- [9] Y. Hatanaka, A. Noudo, C. Muramatsu, A. Sawada, T. Hara y T. a. F. H. Yamamoto, «Automatic measurement of cup to disc», *Annu. Int. Conf. IEEE Eng. in Medicine and Biology Society*, pp. 3387-3390, 2011
- [10] M. H. Tan, Y. Sun, S. H. Ong, J. Liu, M. Baskaran y T. A. a. T. Y. Wong, «Automatic Notch Detection in Retinal Images», *IEEE 10th Int. Symp. on Biomedical Imaging: From Nano to Macro*, pp. 1440-1443, 2013.
- [11] J. GD, S. J y K. SR., «Optic disk and cup segmentation from monocular color retinal images for glaucoma assessment.», *IEEE Trans Med Imaging.*, 2011.
- [12] G. Joshi, J. Sivaswamy, K. Karan y K. a. S. Krishnadas, «Vessel bend-based cup segmentation in retinal images», *Int. Conf. Pattern Recognition*, pp. 2536-2539, 2010.
- [13] G. Joshi, K. J. Sivaswamy y K. a. S. K. Karan, «Optic disk and cup boundary detection using regional information», *IEEE Int. Symp. on Biomedical Imaging: From Nano to Macro*, pp. 948-951, 2010.
- [14] I. Fondón, J. F. Valverde, A. Sarmiento, Q. Abbas, S. Jiménez and P. Alemany, "Automatic Optic Cup Segmentation Algorithm for Retinal Fundus Images based on Random Forest Classifier," in EUROCON, Salamanca, 2015.
- [15] Wong DW, Liu J, Lim JH, Tan NM, Zhang Z, Lu S, Li H, Teo MH, Chan KL, Wong TY, "Intelligent fusion of cup-to-disc ratio determination methods for glaucoma detection in ARGALI," in Int. Conf. IEEE Eng. in Medicine and Biology Society, Annu, 2009.
- [16] Sharma, G., Wu, W., & Dalal, E. N. (2005). The CIEDE2000 color-difference formula: Implementation notes, supplementary test data, and mathematical observations. *Color Research & Application*, 30(1), 21-30.
- [17] M. Fairchild, *Color Appearance Models*, New Jersey: John Wiley & Sons, 2005.
- [18] M. Melgosa, R. Huertas y R. Berns, «Relative significance of the terms in the CIEDE200 and CIE94 color difference formulas», *Journal of the J. Opt. Soc. Am A-Opt. Image Sci. Vis.*, n° 21, pp. 2269-2275, 2004.
- [19] Fondon, I., van Grinsven, M. J., Sanchez, C. I., & Saez, A, "Perceptually adapted method for optic disc detection on retinal fundus images" in *Proceedings of the 26th IEEE International Symposium on Computer-Based Medical Systems* (pp. 279-284). IEEE, 2013.
- [20] "Hamilton Eye Institute Macular Edema Dataset," [Online]. <http://vibot.u-bourgogne.fr/luca/heimed.php>
- [21] "Resolution Fundus (HRF) Image Database," Universität Erlangen-Nürnberg, Pattern Recognition Lab, [Online]. <https://www5.cs.fau.de/research/data/fundus-images/>.
- [22] "Medical Image Analysis Group. Universidad de La Laguna, España," [Online]: <http://medimrg.webs.ull.es/research/retinal-imaging/>.
- [23] "Messidor Database," French Ministry of Research and Defense, [Online]: <http://messidor.crihan.fr/index-en.php>.
- [24] "STructured Analysis of the Retina Database," [Online]: <http://www.ces.clemson.edu/~ahoover/stare/>.
- [25] "DRIVE Database," [Online]: <http://www.isi.uu.nl/Research/Databases/DRIVE/>.
- [26] MathWorks, Classification Using Nearest Neighbors.
- [27] "Classify using support vector machine (SVM). Mathworks," [Online]: <http://es.mathworks.com/help/stats/svmclassification.html>.
- [28] "Decision Trees. Mathworks," [Online]: <http://es.mathworks.com/help/stats/classification-trees-and-regression-trees.html?searchHighlight=decision%20trees>.

Análisis de Textura Neuronal en modelo murino de la enfermedad Síndrome de Down

I. Fondón García¹, A. Sarmiento Vega¹, A.J. Jiménez Contreras¹, R.E. López Zaragoza¹, B. Galán Rodríguez², J.J. Casañas² y M.L. Montesinos²

¹ Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Escuela Superior de Ingenieros, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, {irenef,sarmiento}@us.es

² Departamento de Fisiología Médica y Biofísica, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, {mlmontesinos, jjcasanas, begaro}@us.es

Resumen

El objetivo de este trabajo es el desarrollo de una nueva metodología de investigación en el campo de la neurociencia basada en el procesado de imágenes de inmunofluorescencia de secciones de tejidos, donde las neuronas se pueden visualizar tal y como están distribuidas en la realidad, mediante parámetros de textura. Para la validación de esta metodología se ha utilizado un modelo de enfermedad de Síndrome de Down (SD) en sujetos murinos, donde existe una alteración en la morfología neuronal apreciable en neuronas en cultivos. Se han evaluado el uso de descriptores de textura clásicos, dispersos y patrones locales binarios para la clasificación automática de imágenes de la región CA1 del hipocampo en los tipos control y SD. Los resultados obtenidos, de hasta un 95% de aciertos, verifican que la caracterización mediante textura es relevante a la hora de cuantificar alteraciones morfológicas dendríticas estudiadas de forma global.

1. Introducción

Las enfermedades neurológicas cognitivas y neurodegenerativas que afectan, entre otras, a la capacidad de aprendizaje y/o memoria, conllevan una alteración morfológica neuronal. La cuantificación de dicha alteración y su evolución proporciona información muy útil para los científicos. Actualmente, el uso de técnicas de procesado automático con este fin está muy limitado, centrándose en el análisis de imágenes de inmunofluorescencia de neuronas en cultivos aisladas.

Una de las enfermedades cognitivas y neurodegenerativas que despierta más interés en el ámbito científico es el Síndrome de Down (SD). El SD se debe a la trisomía del cromosoma humano 21, y es la causa más frecuente de discapacidad intelectual de origen genético.

El uso de cultivos neuronales está muy extendido en el ámbito científico, si bien no deja de ser una aproximación experimental del modelo real. A pesar de ello, en el estudio del SD, estas técnicas han proporcionado información muy útil sobre la morfogénesis de las neuronas del hipocampo de modelos murinos. Como ejemplo, el grupo científico liderado por la Dra. Montesinos, directora del Laboratorio de Traducción Local Sináptica (TTLS) de la Universidad de Sevilla, ha detectado, usando el Análisis de Sholl [1], diferencias morfológicas en la arborización dendrítica entre neuronas

aisladas en cultivo pertenecientes a ratones Ts1Cje, un modelo de SD, y ratones control o Wild Type (WT) libres de la enfermedad neurodegenerativa [2-4].

En lugar de realizar el estudio del patrón dendrítico de neuronas aisladas, en este trabajo se estudia el patrón dendrítico de forma global mediante el análisis de imágenes de inmunofluorescencia de secciones histológicas de tejidos del cerebro, véase la Figura 1, en las cuales se visualizan todas las neuronas tal y como están distribuidas en la realidad. Nos hemos centrado en el estudio de la región CA1, por ser una región fundamental que está implicada en todas las formas de memoria.

Una vez comprobada la diferencia morfológica existente en neuronas aisladas en cultivo, el siguiente paso consiste en comprobar si esa misma diferencia morfológica es apreciable en secciones de tejidos neuronales. En el caso particular de la región CA1 del hipocampo la diferencia de apariencia entre imágenes de inmunofluorescencia de sujetos WT y SD no es tan clara ni apreciable a simple vista, por lo que se hace necesario estudiar diferentes parámetros objetivos capaces de, automáticamente, discernir entre dos tipos de hipocampo, SD y WT.

En este trabajo hemos considerado que los descriptores más adecuados para capturar las características más relevantes de estas imágenes son los descriptores de textura.

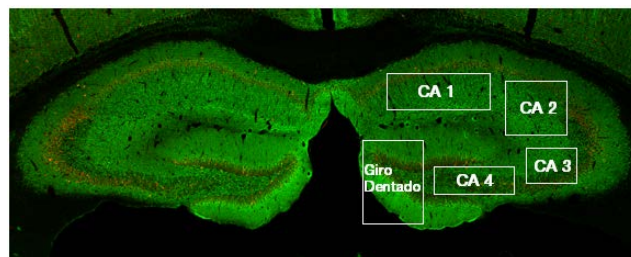


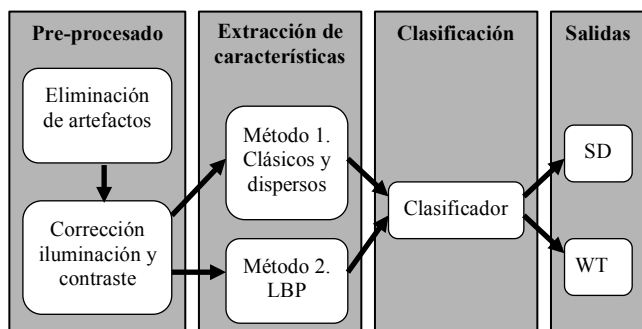
Figura 1. Imagen tomada con microscopio confocal de una sección coronal de la región de hipocampo murino y sus zonas representativas.

La selección de la textura como característica diferenciadora se debe a su capacidad para proporcionar medidas de propiedades tales como la suavidad, rugosidad y regularidad de una imagen [5]. Este enfoque

es totalmente novedoso en el estudio de la morfología dendrítica, como evidencia la escasa existencia de literatura al respecto. Hasta nuestro conocimiento, el único trabajo en el que se analiza de forma global secciones histológicas de tejido se encuentra en [6]. Sin embargo, en ese artículo se estudia únicamente características de orientación y anisotropía mediante análisis de estructura tensorial, obteniéndose las mismas características que se obtienen con el análisis de imágenes con tensor de difusión. Por el contrario, nuestra trabajo analiza por primera vez en la literatura diferentes descriptores de textura, con el objetivo de obtener nuevos protocolos que permitan la cuantificación objetiva de la morfología global neuronal.

2. Materiales y métodos

A continuación, se describen las diferentes etapas del método propuesto, cuyo diagrama de bloques se ilustra en la Figura 2. En un primer lugar, se describirá la obtención y selección de las imágenes de hipocampo. A continuación, se describirán las técnicas de pre-procesado implementadas, finalizando con la descripción de los diferentes descriptores de texturas empleados. El software



empleado para la programación del algoritmo ha sido MATLAB® R2015a.

Figura 2. Diagrama de bloques del método propuesto.

2.1. Obtención y selección de imágenes

La captación de las imágenes se realizó en el Centro de Investigación, Tecnología e Innovación de la Universidad de Sevilla (CITIUS). Se utilizó un microscopio confocal espectral de barrido láser ZEISS LSM 7 DUO. Las preparaciones se sometieron a marcaje de las estructuras somatodendríticas neuronales utilizando anticuerpos específicos contra la proteína MAP2. A cada preparación se le tomó una pila de imágenes compuesta por doce planos focales. Posteriormente se seleccionó el plano focal que tenía el mejor contraste y nitidez en la región de interés, y el resto de planos se descartaron del estudio para evitar tener datos correlados en las imágenes estudiadas.

La base de imágenes obtenida estaba finalmente formada por nueve imágenes (una de ellas de sección coronal), conteniendo un total de diez muestras de hipocampos: cinco de ellas pertenecientes a la clase SD, y otras cinco a la clase WT. Cada imagen de hipocampo inicial fue

convertida a escala de grises, como muestra la Figura 3. A continuación se seleccionó de forma manual la región de interés (ROI) constituida por la región CA1 del hipocampo. Finalmente, se rotó la selección con el objetivo de visualizar el área CA1 horizontalmente.

2.2. Pre-procesado

Debido a las diferencias de iluminación y contraste, así como a la existencia de artefactos no deseados, se realizó un pre-procesado de las imágenes. En primer lugar se aplicó el algoritmo de Fast Image Inpainting (FII) [7] para eliminar los artefactos producidos por los vasos sanguíneos de mayor tamaño que podían afectar al resultado final. Estos vasos sanguíneos aparecen como áreas circulares o elipsoides de color gris oscuro, no siendo una característica diferenciadora entre las clases SD y WT. Este algoritmo, a partir de una imagen y una máscara de puntos no deseados, realiza una interpolación de los valores que tendría la imagen en esos puntos a partir del resto de la imagen.

A continuación con el objetivo de igualar la intensidad y mejorar el contraste de las imágenes se realizó una ecualización adaptativa del histograma con limitación de contraste, conocida por sus siglas en inglés, CLAHE [8]. Un ejemplo de las distintas etapas del pre-procesado de una de las imágenes estudiadas se muestra en la Figura 4.

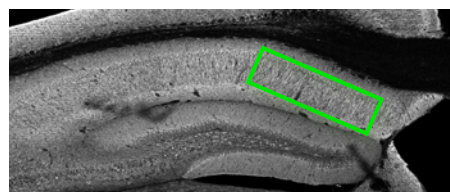


Figura 3. Imagen del hipocampo en escala de grises. La selección de la región de interés CA1 se muestra recuadrada en verde.

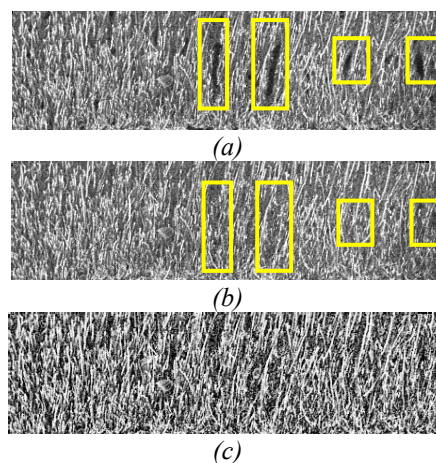


Figura 4. (a) Región de interés original. Los vasos sanguíneos de mayor tamaño están remarcados en amarillo. (b) Imagen obtenida después de aplicar el algoritmo Fast Image Inpainting. (c) Imagen obtenida tras aplicar el algoritmo CLAHE para la mejora del contraste.

Debido al escaso número de imágenes de las que se disponía y empleando la metodología seguida ampliamente en la literatura acerca de la caracterización

de imágenes mediante textura, se procedió a dividir cada región CA1 de interés en dieciséis bloques cuadrados de 50 píxeles no solapados, obteniéndose un total de 16 bloques por cada una de las imágenes seleccionadas. En total la base de imágenes está compuesta por 80 imágenes SD y 80 WT.

2.3. Extracción de características

En este trabajo se han evaluado dos grupos de descriptores de textura: descriptores de textura clásicos en combinación con otros descriptores más recientes que explotan la característica “sparse” o dispersa de la textura (método 1), y descriptores de textura patrones locales binarios (LBP) (método 2).

Método 1. Descriptores clásicos y dispersos

Como primer estudio, se decidió evaluar la eficacia de descriptores texturales clásicos y descriptores dispersos debido a su robustez y contrastado funcionamiento en la clasificación de imágenes. El vector de características resultante estaba formado por:

- Descriptores estadísticos: media, desviación estándar, coeficiente de asimetría o skewness, kurtosis y entropía.
- La particularización de la dimensión fractal denominada dimensión de Hausdorff [9].
- Descriptores de texturas de Haralick [10] a partir de la matriz de co-ocurrencia.
- Media y varianza del vector textura dispersa, descrito en [11-12] usando cinco componentes.

Método 2. Descriptores LBP

En este método se incluyeron los códigos LBP [13], debido a su baja complejidad computacional y su alto poder de discriminación. De todas las variantes LBP existentes, se seleccionó un código circular e invariante a la rotación, con vecindad de ocho píxeles y radio igual a uno. Por cada bloque se obtuvieron treinta y seis códigos LBP. El vector de características estaba formado por el histograma de estos treinta y seis códigos.

2.4. Entrenamiento y clasificación

Para evaluar la capacidad descriptora de las características obtenidas, se entrenaron y validaron cinco clasificadores distintos, evaluándose los métodos 1 y 2 por separado. Los clasificadores empleados han sido:

- Support Vector Machine (SVM) [14]. en sus versiones de kernel lineal, cuadrática, cúbica y Gaussiana.
- *K*-Nearest Neighbour (KNN) [15] en sus versiones de distancia mínima de coseno y cúbica.
- Complex Tree (un solo árbol de decisión).
- Bagged Tree [16].
- Random Forests [17].

La técnica de evaluación de la calidad para todos los clasificadores probados es una validación externa. Se seleccionaron para cada tipo de imágenes, SD y WT, 48 bloques para la etapa de entrenamiento de los clasificadores y 32 bloques para la etapa de testeo.

3. Resultados

La métrica utilizada para valorar los métodos desarrollados es el porcentaje de aciertos. Los resultados de clasificación obtenidos se muestran en la Tabla 1.

Clasificador	Método 1	Método 2
SVM (kernel lineal)	96.88%	92.18%
SVM (kernel cuadrático)	93.75%	90.62%
SVM (kernel cúbico)	93.75%	89.06%
SVM (kernel gaussiano)	92.19%	90.62%
k-NN (distancia mínima coseno)	75.00%	95.62%
k-NN (distancia mínima cúbica)	78.13%	90.62%
Complex Tree	76.56%	76.56%
Bagged Tree	85.94%	95.31%
Random Forests	89.06%	93.75%

Tabla 1. Porcentaje de aciertos. Se ha destacado para cada método, el clasificador con el que mejor resultado se ha obtenido.

De todas las posibles combinaciones, el mejor resultado, un 96.88%, se obtiene con el método 1 (descriptores de textura clásicos y dispersos) y usando SVM en su versión de kernel lineal. En el caso del método 2, que usa los descriptores de textura LBP, el resultado es ligeramente inferior, 95.62%, aunque sigue siendo un porcentaje de acierto muy alto.

4. Discusión

El principal objetivo de este trabajo de investigación es verificar el uso de descriptores de textura para discernir diferencias morfológicas neuronales de forma global en secciones de tejido cerebral entre modelos murinos de Síndrome de Down y sujetos murinos control. Para ello, se ha realizado un experimento en el que se clasifica una imagen de la región de interés en SD o WT dependiendo únicamente de descriptores de textura utilizando varias técnicas recientes de aprendizaje de máquinas. Se han utilizado dos conjuntos de descriptores de textura diferentes, obteniéndose unos porcentajes de aciertos muy altos en ambos métodos estudiados.

De los resultados obtenidos se infiere que efectivamente la textura de la región CA1 del hipocampo de ratones SD se encuentra alterada respecto a la textura de la misma región en sujetos control. Esta alteración era previsible

debido a las diferencias morfológicas dendríticas apreciadas en neuronas aisladas en cultivo en estudios previos realizados en el Laboratorio de Traducción Local Sináptica de la Universidad de Sevilla. Sin embargo, el hecho de haber sido capaz de identificar el tipo de ratón al que pertenece una determinada imagen en función únicamente de la textura de forma completamente automática, abre un nuevo paradigma de investigación que puede ser utilizado en el estudio de un gran número de enfermedades cognitivas y neurodegenerativas.

5. Conclusión

En este trabajo de investigación se ha propuesto una nueva metodología en la investigación de enfermedades neurodegenerativas, a través del estudio de estructuras dendríticas en tejidos completos y no de neuronas aisladas, basada únicamente en características de textura de la región de interés usando imágenes de inmunofluorescencia.

El método desarrollado consta de una etapa de pre-procesado de las imágenes de la región CA1, en la cuál se eliminan los artefactos existentes en las imágenes debido a la presencia de vasos sanguíneos; y a continuación se realiza una igualación de intensidad y mejora del contraste. Tras el pre-procesado de las imágenes se procede a la extracción de características de textura. Se han evaluado dos conjuntos de descriptores diferentes: un primer conjunto de descriptores de textura clásicos y descriptores que explotan la característica dispersa de los datos; y un segundo conjunto de descriptores de códigos de patrones locales binarios. A continuación se ha procedido a la clasificación automática de las imágenes en las clases SD y WT usando diferentes técnicas de aprendizaje de máquinas.

La base de imágenes utilizada en los experimentos, se ha construido mediante la división de regiones completas CA1 en trozos más pequeños, obteniéndose en total 80 imágenes de tipo SD y 80 de tipo WT.

Mediante el método de validación externa, se han obtenido porcentajes de acierto de más del 95% de los casos en los dos conjuntos de descriptores analizados, siendo los clasificadores de tipo SVM en su versión kernel-lineal y K-NN con distancia mínima coseno, los clasificadores con mejores rendimientos para cada conjunto de descriptores respectivamente.

En el futuro sería deseable contar con una base de imágenes de mayor tamaño de forma que se estudie la región CA1 completa, en lugar de analizar trozos más pequeños de la misma.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto de la Junta de Andalucía P11-TIC-7727 y por la Escuela Superior de Ingenieros de la Universidad de Sevilla.

Referencias

- [1] D.A.Sholl, Dendritic organization in the neurons of the visual and motor cortices of the cat, *Journal of Anatomy* vol. 87, nº 4, pp. 387-406, 1953.
- [2] J.A. Troca-Marín, A. Alves-Sampaio, M.L. Montesinos, Deregulated mTOR-mediated translation in intellectual disability, *Prog. Neurobiol.* Vol 96 pp. 268-282, 2012
- [3] M.L. Montesinos, Roles for DSCAM and DSCAML1 in central nervous system development and disease, In *Cell Adhesión Molecules: Implications in Neurological Diseases, Advances in Neurobiology*, Springer 2014.
- [4] J.A. Troca-Marín, J.J. Casañas, I. Benito, M.L. Montesinos, The Akt-mTOR pathway in Down's syndrome: the potential use of rapamycin/rapalogs for treating cognitive deficits, *CNS Neurol Disord Drug Targets* vol. 13, pp. 34-40, 2014.
- [5] R. González and R. E. Woods, *Digital Image Processing*, 3ª edition, Prentice Hall, Nueva Jersey (EE.UU.), 2008.
- [6] M. D. Budde and J. A. Frank, Examining brain microstructure using structure tensor analysis of histological sections, *NeuroImage* vol. 63, n11, pp. 1-10, October, 2012.
- [7] F. Bornemann and T. März: *Fast Image Inpainting Based on Coherence Transport*. Springer Science+Business Media, 2007.
- [8] Contrast-limited adaptive histogram equalization (CLAHE). At MathWorks. Last query: 14 de Julio de 2015. Available link at: <http://es.mathworks.com/help/images/ref/adapthisteq.html>
- [9] A. F. Costa, G. Humpire-Mamani, A. J. M. Traina: An Efficient Algorithm for Fractal Analysis of Textures. Brazil, 2012.
- [10] R. M. Haralick, K. Shanmugam, I. Dinstein: Textural Features for Image Clasification. IEEE Transactions on systems, man and cybernetics, 1973.
- [11] A. Sarmiento, I. Fondón, M. Velasco, A. Qasair, P. Aguilera: Gaussian mixture model generalized for segmentation of melanomas. Annual congress of the Spanish Society of Biomedical Engineering (CASEIB), 2014.
- [12] C. Scharfenberger: Statistical Textural Distinctiveness for Salient Region Detection in Natural Images. IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR), 2013.
- [13] Multiresolution Gray-scale and Rotation Invariant Texture Classification with Local Binary Patterns. Ojala, T., Pietikäinen, M. and Mäenpää, T. (2002). IEEE Trans. Pattern Analysis and Machine Intelligence 24(7): 971-98.
- [14] C. Cortes, V. Vapnik: Support-Vector Networks. AT&T Bell Labs (USA), 1995.
- [15] N. S. Altman: An introduction to kernel and nearest-neighbor nonparametric regression. The American Statistician 46(3): 175-185, 1992.
- [16] L. Breiman: Bagging predictors. Technical Report No. 421. Department of Statistics, University of California, 1994.
- [17] L. Breiman: *Random Forests*. University of California, 2001.

Evaluación de la calidad de métodos extractores de características locales en imágenes de resonancia magnética cerebral

J. García-Novoa^{1, 2}, M.R. Espejo-Carrizo¹, B. Rodríguez-Vila^{1, 2}, P. Sánchez-González^{1, 2}, M. Luna¹, J. M. Tormos³, E.J. Gómez^{1, 2}

¹Grupo de Bioingeniería y Telemedicina (GBT), E.T.S.I. de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España.

²Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), España.

³ Instituto Guttmann – Hospital de Neurorehabilitación, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España.

Resumen

Las características locales de una imagen se refieren a patrones o estructuras distintivas que permiten caracterizarla. En el campo del procesamiento de las imágenes médicas juegan un papel esencial en algoritmos de registro y reconstrucción 3D de órganos y estructuras anatómicas. En este trabajo de investigación se realiza un estudio comparativo entre los métodos extractores de características locales MSER, BRISK, SURF y BFDA con el objetivo de evaluar la calidad de estos métodos en imágenes de resonancia magnética cerebral. Para ello se definen las métricas de robustez, homogeneidad y rendimiento.

1. Introducción

Las características locales de una imagen se refieren a patrones o estructuras distintivas que permiten caracterizarla, estas pueden ser puntos, bordes o pequeñas regiones de la imagen y por lo general están determinadas por cambios de intensidad, texturas o color [1].

En el campo del procesamiento de las imágenes de resonancia magnética cerebral estas características son ampliamente utilizadas en algoritmos de registros entre estudios de imágenes de pacientes y atlas cerebrales, en algoritmos de segmentación y clasificación de estructuras y en algoritmos de reconstrucción 3D.

En la literatura se pueden encontrar una amplia variedad de algoritmos extractores de características, entre los que cabe destacar MSER [2], BRISK [3], SURF [4] y BFDA [5].

Pero la gran mayoría de estos algoritmos están diseñados para trabajar sobre imágenes procedentes de cámaras digitales o sistemas de video, que normalmente están en colores y son ricas en contraste.

La imagen de resonancia magnética cerebral presenta características muy distintas, son imágenes tomadas en blanco y negro, con menor resolución y bajos niveles de contrastes. Además, las estructuras anatómicas cerebrales no presentan bordes bien definidos lo que dificulta la tarea de extracción de características locales mediante estos algoritmos.

En este trabajo se han seleccionado los algoritmos MSER, BRISK, SURF y BFDA para aplicarlos en imágenes de resonancia magnética cerebral y evaluar los resultados en este tipo de imagen. Para la comparación objetiva se proponen 3 métricas que servirán para poder cuantificar los resultados y poder compararlos.

2. Materiales y Método

Para el desarrollo de este trabajo se utilizaron 10 estudios de imágenes de pacientes sanos de la base de datos del atlas cerebral LPBA40[6] de los cuales se extrajeron 3 cortes axiales a diferentes alturas en la región central.

Sobre los cortes extraídos se aplicaron los algoritmos extractores de características locales BRISK, MSER, SURF y BFDA.

A continuación, se describen los algoritmos extractores de características seleccionados en este estudio.

2.1 Maximally Stable Extremal Regions (MSER)

MSER [2] se basa en la realización de un barrido de una serie de umbrales para observar cuales regiones de píxeles conectados entre sí permanecen prácticamente iguales. Los umbrales utilizados para el barrido son uno por cada nivel de gris que exista en la escala de grises, de manera que con cada cambio del mismo se va creando una imagen binaria en la que los píxeles toman el valor blanco o negro en concordancia con el aumento progresivo del umbral. Las áreas de cada región de píxeles conectados se guardan en

una función y se marcan como máximamente estables si mantienen su tamaño ante varios niveles de umbral.

Este algoritmo es útil para encontrar correspondencias entre dos elementos de una imagen tomada desde diferentes puntos de vista, pues se considera estable ante una amplia gama de valores de umbral. El número de umbrales para el cual una región es estable se denomina margen de la región.

2.2 Binary Robust Invariant Scalable Keypoints (BRISK)

BRISK [3] es un algoritmo detector de esquinas, con poco coste computacional y cierto carácter invariante a cambios de rotación y escala. Se considera una versión multi-escala del algoritmo FAST [7]. BRISK busca los máximos locales tanto en el plano de imagen como en el espacio de escalas, clasificando un punto p con intensidad I_p como esquina si n píxeles contiguos en el círculo de Bresenham de radio 3 son todos más brillantes que I_{p+t} o todos más oscuros que I_{p-t} , siendo t un umbral definido. Además, este algoritmo acelera el proceso de clasificación de puntos como esquinas utilizando técnicas de aprendizaje automático.

2.3 Speeded-Up Robust Features (SURF)

SURF [4] es un algoritmo detector de blobs inspirado en SIFT [8][9] y especialmente diseñado para ser robusto ante cambios de escala y rotación sin afectar el rendimiento. Este algoritmo calcula la distribución acumulada de los valores de intensidad de la imagen, también conocidos como imagen integral, y utiliza el determinante de la matriz Hessiana para encontrar estructuras de tipo blob, ya que el determinante será máximo en dichos puntos. Como resultado del determinante, lo que se obtiene es la respuesta de una imagen en un punto determinado p . Las respuestas obtenidas en cada punto son guardadas en un mapa de respuestas para diferentes escalas, donde los máximos locales serán detectados y aquellos puntos que no cumplan la condición de máximo en un vecindario de $3 \times 3 \times 3$ serán eliminados. Este proceso se repite en cada una de las escalas para localizar correctamente los puntos de interés.

2.4 Brain Feature Detection Algorithm (BFDA)

BFDA [5] es un algoritmo detector de blobs basado en SURF. La innovación propuesta por este algoritmo respecto a SURF es una modificación en la forma de calcular el filtro de conservación de energía del determinante Hessiano para extraer los puntos de interés.

Con esta modificación el BFDA solo tiene en cuenta los valores de intensidad de los píxeles afectados por cada filtro y hace que la dispersión de intensidad sea independiente del contraste, logrando de esta manera obtener un mayor número de puntos singulares en MRI cerebrales.

Las métricas utilizadas para la evaluación y comparación de los algoritmos se describen a continuación.

2.5 Métricas de validación

2.5.1 Robustez

La robustez se define como la capacidad de un algoritmo para producir resultados constantes y fiables ante posibles perturbaciones que puedan aparecer en la imagen.

Para cuantificar la robustez se ha definido la métrica *Coficiente de Robustez (CR)* que analiza a través de la ecuación (2) la relación entre las cantidades de puntos detectados en una imagen antes y después de aplicársele una transformación.

$$CR = \left| 1 - \left(\frac{\text{cantidad de puntos detectados CON variación}}{\text{cantidad de puntos detectados SIN variación}} \right) \right| \quad (2)$$

Para obtener el CR se han aplicado transformaciones de rotación entre -10° y 10° y cambios de escala entre $\pm 10\%$ como se muestra en la Figura 1.

Estas transformaciones simulan variaciones en el tamaño del cerebro y posible rotación que pueden ocurrir por cambios de posturas de los pacientes mientras se les realiza el estudio.

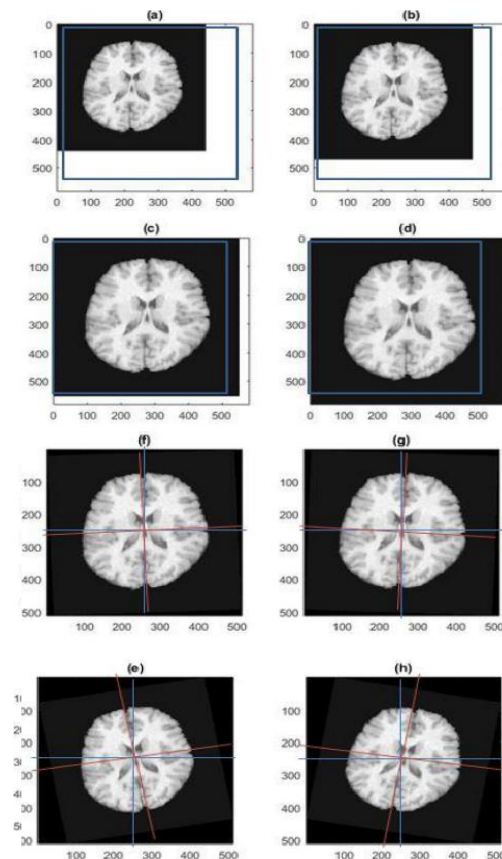


Figura 1: Transformaciones de cambio de escala y rotación aplicadas a las imágenes.

2.5.2 Homogeneidad en la distribución

La homogeneidad en la distribución es la capacidad de los algoritmos extractores para identificar características locales de manera uniforme sobre el área de estudio en la imagen. En nuestro caso interesa cuantificar la distribución de los puntos dentro del área determinada por el cerebro en los estudios MRI porque la finalidad es obtener

información homogénea de la imagen para poder aplicar métodos de registro basados en características.

En este trabajo se propone una métrica para cuantificar la homogeneidad que llamaremos **Coefficiente de Variación de la Distribución (CVD)** (3).

$$CVD = \frac{\sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}}{\bar{x}} \quad (3)$$

donde $\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$ (4)

El parámetro x es el área de los triángulos creados aplicando el algoritmo de Delaunay [10]. Este algoritmo genera triángulos cuyos vértices son los puntos detectados por cada algoritmo cumpliendo con la propiedad de que el círculo definido por sus vértices no contiene a otros puntos de la propia triangulación.

Este coeficiente nos permite estudiar la homogeneidad de la distribución de manera que, cuanto menor sea la desviación más homogénea será considerada la detección de los puntos.

2.5.3 Rendimiento

Esta métrica aporta información sobre la cantidad de puntos que se pueden detectar por unidad de tiempo.

$$Rendimiento = \left(\frac{\text{total de puntos detectados}}{\text{tiempo de ejecución}} \right) \quad (5)$$

3. Resultados

A continuación, se exponen los resultados obtenidos en la métrica de robustez, coeficientes de variación en la distribución y rendimiento de cada uno de los métodos evaluados.

3.1 Evaluación del Coeficiente de Robustez

Para evaluar la robustez de los algoritmos extractores se aplicaron transformaciones de la Figura 1 y se calculó el coeficiente de robustez para cada tipo de transformación. Posteriormente se calculó la robustez conjunta para cada algoritmo formada por la suma de los CR por cada tipo de transformación aplicada.

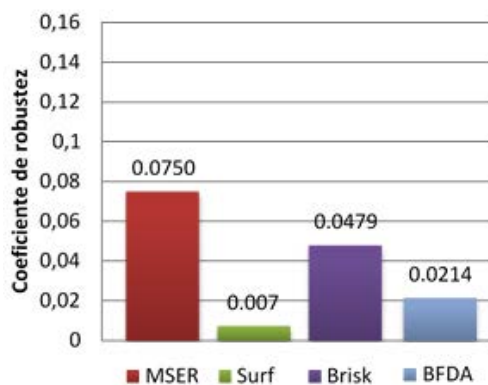


Figura 2: Coeficiente de robustez conjunta.

La Figura 3 representa la variación en el coeficiente de robustez conjunta existente entre la aplicación de los diferentes algoritmos extractores a las imágenes antes y después de realizar los cambios de escala y rotación.

Los valores de CR pueden variar entre 0 y 1. Cuanto menor sea el valor del coeficiente mejor se comporta un algoritmo ante las transformaciones aplicadas. Siguiendo este criterio el SURF es el algoritmo con mejores resultados seguido del BFDA.

3.2 Evaluación del Coeficiente de Variación de la Distribución

Para evaluar esta métrica se aplicaron los algoritmos extractores sobre las imágenes sin transformar y se analizó la cantidad y distribución de las características locales detectadas en las imágenes. Ver Figura 3 y Figura 4.

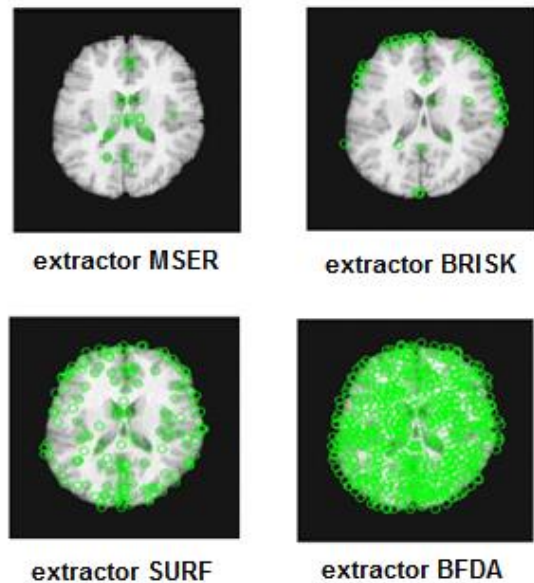


Figura 3: Aplicación de los diferentes algoritmos extractores a imágenes de resonancia magnética cerebral.

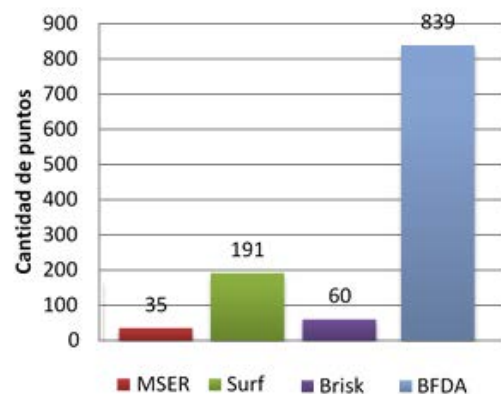


Figura 4: Cantidad de puntos detectados.

Los algoritmos que mayor cantidad de puntos detectaron fueron BFDA, SURF y BRISK. Si se analiza la distribución de las características encontradas se puede apreciar como BFDA y SURF son capaces de detectar puntos de manera homogénea sobre todo el área del cerebro, A pesar de ello BFDA encuentra casi 8 veces más

puntos que SURF lo que es un resultado muy bueno. En el caso de MSER y BRISK la cantidad de puntos encontrados es mucho menor y además se encuentran localizados en los bordes de algunas estructuras.

En la Figura 5, se muestran los valores del cálculo de la métrica *CVD* donde se aprecia como los algoritmos SURF y BFDA presentan mejores resultados.

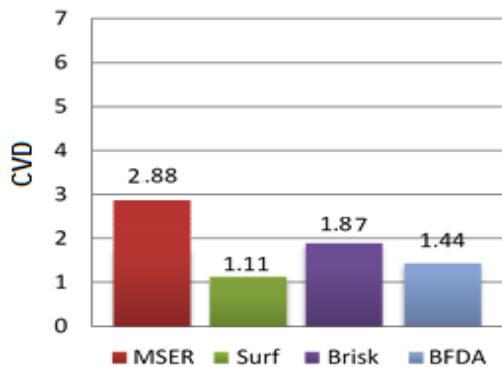


Figura 5: Coeficiente de Variación en la Distribución.

3.1 Evaluación del rendimiento

Los resultados que se muestran en la Figura 6 se obtuvieron utilizando el software Matlab R2016A en un ordenador con una CPU i7 a 3.0GHz y una memoria RAM de 8Gb.

En cuanto al rendimiento el BFDA destaca sobre los demás algoritmos encontrando una mayor cantidad de puntos por segundos.

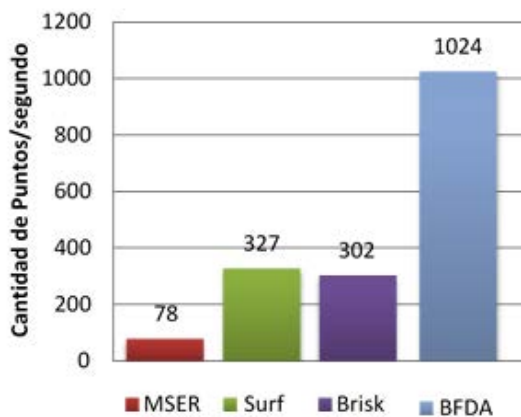


Figura 6: Rendimiento.

4. Conclusiones y discusión

Las imágenes de resonancia magnética cerebral presentan ciertas particularidades que dificultan la extracción de características locales. La gran mayoría de los algoritmos extractores que se pueden encontrar en la literatura no obtienen buenos resultados cuando son aplicados en este tipo de imágenes.

Algoritmos detectores de esquina como BRISK concentran la detección de puntos en los bordes y algoritmos extractores basados en blobs como SURF son capaces de encontrar características locales de manera más homogénea en toda el área cerebral pero la cantidad de

características encontradas no es suficiente para realizar registros de imágenes o reconstrucciones 3D fiables.

De los métodos evaluados, BFDA es el algoritmo con mejores resultados, este presenta resultados similares a SURF ante transformaciones de escala y rotación, pero logra extraer muchas más características y la distribución de los puntos es homogénea. Todo ello lo convierte en la mejor opción entre los métodos evaluados a la hora de seleccionar un algoritmo extractor de características locales para realizar registros o reconstrucciones 3D en imágenes de resonancia magnética cerebral.

Agradecimientos

Este trabajo forma parte del proyecto COGNITIO (TIN2012-38450-C03) financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad.

Referencias

- [1] Tuytelaars, T and Mikolajczyk, K (2008) Local invariant feature detectors: A survey Foundations and Trends in Computer Graphics and Vision, 3. pp.177-280.
- [2] Matas, J., O. Chum, M. Urba, and T. Pajdla. "Robust wide baseline stereo from maximally stable extremal regions." Proceedings of British Machine Vision Conference, pages 384-396, 2002.
- [3] Stefan Leutenegger, Margarita Chli and Roland Siegwart: BRISK: Binary Robust Invariant Scalable Keypoints. ICCV 2011: 2548-2555.
- [4] Bay, H., Ess, A., Tuytelaars, T., Van Gool, L.: Speeded-Up Robust Features (SURF). Computer Vision and Image Understanding 110(3), 346-359 (2008)
- [5] M. Luna, F. Gayá, A. García-Molina, L. M. González, C. Cáceres, M. Bernabeu, T. Roig, A. Pascual-Leone, J. M. Tormos, E. J. Gómez. "Neuroanatomic-Based Detection Algorithm for Automatic labeling of Brain Structures in Brain Injury", XIII Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing 2013, Volume 41 of the series IFMBE Proceedings pp 1694-1697.
- [6] Shattuck DW, Mirza M, Adisetiyo V, Hojatkashani C, Salamon G, Narr KL, Poldrack RA, Bilder RM, Toga AW, Construction of a 3D Probabilistic Atlas of Human Cortical Structures, NeuroImage(2007),doi:10.1016/j.neuroimage.2007.09.031
- [7] Rosten, Edward; Reid Porter; Tom Drummond. "FASTER and better: A machine learning approach to corner detection". IEEE Trans. Pattern Analysis and Machine Intelligence. Vol32, Number 1,2010, pp105-119
- [8] D. Lowe, "Distinctive Image Features from Scale-Invariant Keypoints," Int'l J. Computer Vision, vol. 2, no. 60, pp. 91-110, 2004.
- [9] D.G. Lowe, "Object Recognition from Local Scale-Invariant Features," Proc. Seventh Int'l Conf. Computer Vision, pp. 1150- 1157, 1999.
- [10] P. Cignoni, C. Montani, R. Scopigno: DeWall: A Fast Divide and Conquer Delaunay Triangulation Algorithm in Ed. October 1997

Señales Biomédicas 1

Miércoles 23 de Noviembre

DetECCIÓN DE ESTRÉS MENTAL MEDIANTE EL WAVELET CROSS-BISPECTRUM CARDIORRESPIRATORIO

Spyridon Kontaxis^{1,2}, Jesús Lázaro^{2,1}, Alberto Hernando^{4,2}, Adriana Arza^{3,1}, Jorge Mario Garzón^{1,3}, Eduardo Gil^{2,1}, Pablo Laguna^{2,1}, Jordi Aguiló^{3,1}, Raquel Bailón^{2,1}

¹CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nano medicina (CIBER-BBN), España

²BSICoS Grupo, I3A, IIS Aragón, Universidad de Zaragoza, España

³ Depto. Microelectrónica y Sistemas Electrónicos, Universidad Autónoma de Barcelona, España

⁴Centro Universitario de la Defensa (CUD), Academia General Militar (AGM), Zaragoza, España

Resumen

En este trabajo se estudia el acoplamiento de la fase cuadrática entre respiración y variabilidad del ritmo cardíaco (HRV) durante estrés emocional mediante el uso del wavelet cross-bispectrum (WCB). Se han analizado 80 voluntarios sanos sometidos a un protocolo estándar de estrés. Algunos parámetros derivados del WCB, como las frecuencias en las que el pico máximo está localizado, la distribución de los picos dominantes y la entropía de la fase han demostrado diferencias estadísticamente significativas entre estados de estrés y relajación. Una máquina de soporte vectorial (SVM) basada en estos parámetros ha sido capaz de discriminar entre estados de estrés respecto a los de relajación con una precisión entre el 68% y el 89%, lo que sugiere que las interacciones entre la respiración y la HRV se alteran durante el estrés y esta información podría ser útil para evaluarlo.

1. Introducción

El estrés es un síndrome de adaptación general "descrito como la respuesta no específica del organismo ante cualquier demanda" [1]. El estrés es un fenómeno de alta subjetividad y de hecho muchos factores, incluyendo los de la personalidad, modularán la percepción de este estrés y la excitación provocada por el estímulo que lo genera. En un intento de obtener una medida objetiva del estrés, varios estudios han propuesto marcadores fisiológicos incluyendo la presión arterial (BP), el ritmo cardíaco (HR), diversos índices de la variabilidad del ritmo cardíaco (HRV) y la respiración [2-4].

La variabilidad del ritmo cardíaco es una técnica no invasiva que cuantifica la actividad del Sistema Nervioso Autónomo (ANS). Un espectro de potencia típico tiene entre sus componentes de frecuencia principales, la componente de baja frecuencia (LF: 0.04-0.15 Hz) que está mediada por ambos sistemas simpático y parasimpático y la componente de alta frecuencia (HF: 0.15-0.4 Hz) que refleja la arritmia sinusal respiratoria (RSA) y está mediada fundamentalmente por el sistema parasimpático [5].

En [4] se ha demostrado como la inclusión de información de la frecuencia respiratoria en el análisis de HRV mejoró la capacidad de HRV para discriminar distintos estados de estrés, lo cual motiva el estudio de la interacción entre la respiración y HRV durante estados de estrés. Diferentes métodos han sido aplicados para investigar las interacciones cardiorrespiratorias [6]. En este trabajo

proponemos el uso de Wavelet Cross-Bispectrum (WCB), para incluir la posible relación no lineal entre la respiración y el sistema cardiovascular, como se propone en [7], y la no estacionariedad de las señales durante estrés [8].

2. Materiales y métodos

2.1. Base de datos

80 voluntarios sanos (40 hombres y 40 mujeres), no diagnosticados con ninguna enfermedad crónica o psicológica, con una edad media de 21.57 ± 3.97 fueron medidos en las Universidades Autónoma de Barcelona y la Universidad de Zaragoza. El protocolo experimental incluyó dos sesiones, denominadas basal y estrés, que se realizaron en diferentes días y tienen una duración aproximada de una hora [4]. En la sesión basal se induce un estado de relajación autogénica a través de un audio, donde los 10 primeros minutos son considerados como el estado basal de reposo del sujeto (BL_B) y en los siguientes veinticinco minutos el sujeto se encuentra en un estado de relajación (RS). Las etapas de la sesión de estrés son las siguientes:

- i. Etapa basal (BL_S): Un estado de relajación auto-génica con una duración de 10 minutos.
- ii. Narración de historias (ST): 3 historias con una gran cantidad de detalles fueron leídas al sujeto, que debía memorizar el máximo número de detalles.
- iii. Tarea de memoria (MT): El sujeto narra en voz alta todos los detalles que recuerda de las 3 historias mientras es grabado en video.
- iv. Anticipación del estrés (SA): El sujeto permanece a la espera durante 10 minutos para la evaluación de la tarea previa.
- v. Exposición de vídeo (VE): Se muestra al sujeto la presentación de un vídeo con su actuación en MT. Previamente le mostró otro vídeo de un actor, el cual recuerda todos los detalles, haciéndole creer que su actuación fue poco satisfactoria.
- vi. Tarea de aritmética (AT): El sujeto debe realizar la resta consecutiva de 13 al número 1022 durante 5 minutos y en caso de un error de cálculo, la cuenta regresiva se inicia de nuevo.

Sólo las últimas cinco etapas de la Sesión del estrés se consideran estresantes. Con el fin de evitar posibles fenómenos transitorios entre las diferentes fases, se analizan únicamente los seis minutos centrales de BL_B, RS, BL_S y SA. En este estudio la MT y AT no se consideran, debido a que la interpretación de los resultados resulta difícil mientras el sujeto está hablando. Para la grabación de base de datos se ha utilizado el dispositivo ABP 10 module (Medicom MTD Ltd, Russia) que permite el registro de la señal respiratoria mediante la pletismografía tomada de una banda pectoral muestreada a 250 Hz y el registro del ECG mediante 3 derivaciones ortogonales muestreadas a 1 KHz.

2.2. Variabilidad del ritmo cardíaco

La señal de HRV se generó a partir de la serie temporal de ocurrencia de los latidos, detectados en la derivación Z del ECG, y basándose en el modelo de modulación en frecuencia de pulsos por integración (IPFM), que permite corregir la estimación de la señal de ritmo cardíaco ante la presencia de latidos ectópicos [9]. La señal HRV resultante, así como la señal respiratoria, han sido remuestreadas a 4 Hz. Ambas señales se filtraron, con un filtro paso-banda (Butterworth, 6° orden con frecuencias de corte de 0.04 y 0.8 Hz). Las dos señales se normalizaron de modo que tuviesen la misma energía.

2.3. Wavelet Cross-Bispectrum

Una generalización de análisis bi-espectral es el Wavelet Cross-Bispectrum (B_{WCB}), se compone de una bi-amplitud (A_{WCB}) y una bi-fase (φ_{WCB}) [10]:

$$B_{WCB}(f_1, f_2) = \int_T W_x(f_1, \tau) W_y(f_2, \tau) W_x^*(f_{12}, \tau) dt$$

$$= A_{WCB}(f_1, f_2) e^{j\phi_{WCB}(f_1, f_2)} \quad (1)$$

donde $f_{12} = f_1 + f_2$. La integración se realiza en un intervalo de tiempo finito $T : \tau_0 \leq \tau \leq \tau_1$. Los $W_x(f, \tau)$ y $W_y(f, \tau)$ en (1) son los coeficientes de la Transformada Wavelet Continua (CWT) definidos por la ecuación (2):

$$W_x(f, b) = \frac{1}{\sqrt{a}} \int_{-\infty}^{+\infty} x(t) \psi^* \left(\frac{t-b}{a} \right) dt \quad (2)$$

donde $\psi(t)$ es la wavelet madre escalada por un factor α ($\alpha > 0$), y dilatada por un factor b . Las frecuencias podrían interpretarse como escalas inversas (i.e. $\alpha = f_c f_s / f$) donde f_c es la frecuencia central la wavelet madre y f_s la frecuencia de muestreo.

La señal $x(t)$ representa la señal de HRV mientras que $y(t)$ la señal respiratoria. El WCB cuantifica, en el intervalo de tiempo T , la cantidad del acoplamiento de la fase cuadrática (QPC) entre las componentes de la HRV en la frecuencia f_1 , la componente respiratoria en la frecuencia f_2 y la componente de la HRV en la frecuencia $f_1 + f_2$. Es por esto que el WCB puede considerarse una medida del acoplamiento cardiorrespiratorio. Debido a las simetrías en la definición y la limitación establecida por f_s , la estimación del WCB se realiza en la región $\Omega : f_1 + f_2 \leq f_s/2$.

Las distintas etapas del experimento tienen diferentes duraciones. Con el fin de tener la misma resolución en todas ellas el WCB se calcula en segmentos de duración $(T) 50 \pm 2.5$ s con un solape de 12.5 ± 2.5 s. En cuanto a la implementación del CWT, se utilizó el complex Morlet wavelet con un ancho de banda de $f_b = 0.5$ Hz y frecuencia central $f_c = 0.3$ Hz. Estos valores fueron seleccionados basándose en el contenido de frecuencia de las oscilaciones cardiovasculares y respiratorias.

2.4. Parámetros Cardiorrespiratorios

Para cada segmento, se calculan diferentes parámetros. Cada uno de los parámetros consta de la media de los valores en todos los segmentos. Las características que se relacionan con la bi-amplitud son los siguientes:

$$(f_{HRV}, f_R) = \underset{f_1, f_2}{\operatorname{argmax}} \{A_{WCB}(f_1, f_2)\} \quad (3)$$

Considerando, los M máximos locales, que son superiores a la mitad de $A_{WCB}(f_{HRV}, f_R)$ se denotan (f_{HRV_i}, f_{R_i}) y la distancia media (D_M) de los máximos locales al máximo absoluto se calcula como:

$$D_M = \frac{1}{M} \sum_{i=0}^{M-1} \sqrt{(f_{HRV} - f_{HRV_i})^2 + (f_R - f_{R_i})^2} \quad (4)$$

Además, D_M es la distancia euclídea y es un parámetro que mide la distribución de energía alrededor del máximo absoluto. El siguiente parámetro está relacionado con la bi-fase y se llama entropía de la fase (P_e). La $\phi_{WCB}(f_1, f_2)$ se cuantiza en N bins de tamaño $2\pi/N$ radianes, denotados como B_N ($n = 0, \dots, N-1$), siendo N el número de muestras en el intervalo T . En este punto, se calcula un histograma relativo $p(B_N)$ (Figura 1) dividiendo el número de elementos en cada bin B_N por el número total, L , de los posibles pares (f_1, f_2) que componen el dominio Ω . El siguiente paso es calcular la entropía de Shannon, que es una medida de la aleatoriedad [11]:

$$P_e = - \sum_{n=0}^{N-1} p(B_N) \log(p(B_N)) \quad (5)$$

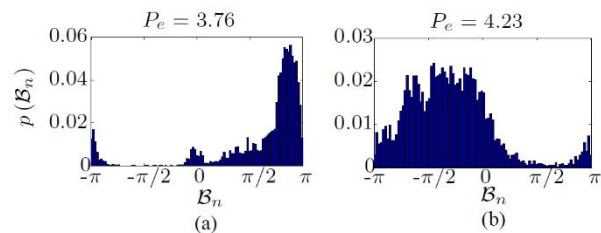


Figura 1. Los histogramas de una fase de (a) relajación (BL_S), (b) estrés (ST)

2.5. Análisis estadístico y clasificación

Los tests de Student o Wilcoxon pareados se implementan en función de si la distribución de los datos es gaussiana o no, respectivamente. El objetivo de este análisis es encontrar diferencias estadísticamente significativas entre las etapas de estrés (ST, SA, VE) y relajación (BL_S) dentro del mismo sujeto en el mismo día. Además, las dos etapas

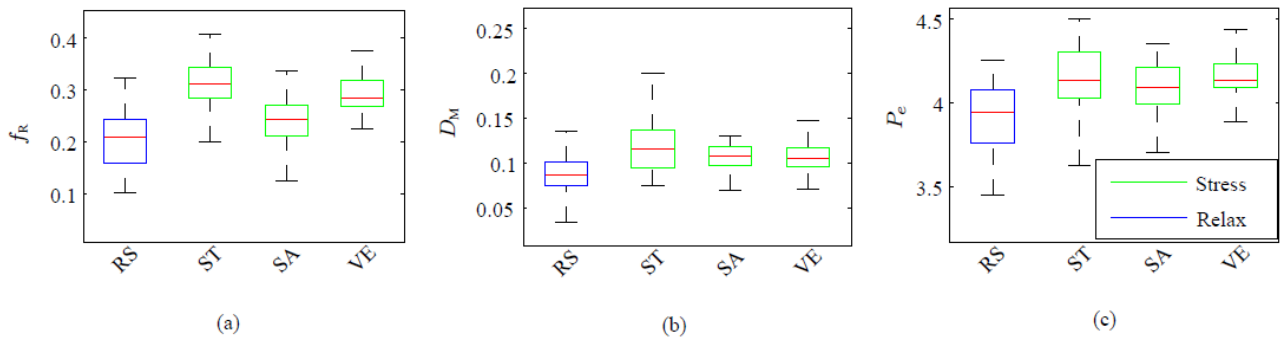


Figura 2. Los diagramas de caja de los parámetros (a) f_R , (b) D_M , (c) P_e

de relajación del mismo sujeto, pero en días diferentes (BL_S , BL_B) se comparan para verificar la repetibilidad de la medida. A continuación, se aborda el problema de la clasificación de cada etapa como estresante o relajada. Todas las etapas de la sesión del estrés (ST, SA, VE) se etiquetaron como estresante sin distinción entre ellas formando el grupo de estrés, mientras que la etapa de relajación (RS) de la sesión basal constituye el grupo de relax. La justificación del uso de RS en lugar de BL_S o BL_B debida a que se sucedieron a un momento similar dentro de las sesiones. Se utilizan sólo los tres parámetros más significativos con el fin de no sobre-ajustar el clasificador. Se utiliza una máquina de soporte vectorial (SVM) (Gaussian radial basis kernel, factor de escala $\sigma = 1$). Se adoptó un esquema de validación cruzada de 3 veces (3-fold cross-validation) y se repite 50 veces. El resultado de clasificación se evalúa a través de la tasa de precisión (CA), que se define como el número de predicciones corregidas dividido por el número total de predicciones. Se utiliza también la métrica F-measure o F1 score (F1), que se define como la media armónica de precisión (verdaderos positivos divididos por la suma de verdaderos positivos y falsos positivos) y sensibilidad (verdaderos positivos divididos por la suma de verdaderos positivos y falsos negativos). Todas las tasas de resultados se promedian por el número total de repeticiones.

3. Resultados

En la Tabla 1 se muestran los p-valores del análisis estadístico pareado (sombreado aquellos casos donde se utiliza el test de Wilcoxon). Cada comparación BL_B , ST, SA, VE vs BL_S se hizo de manera individual, maximizando el número de sujetos (37, 40, 44 y 44 respectivamente). El reducido número de los sujetos en cada comparación es debido al rechazo de las señales de la respiración con los artefactos de movimiento. El símbolo “—” indica que la hipótesis nula no ha sido rechazada.

Etapas	Parámetros Cardiorrespiratorios		
	f_R	D_M	P_e
BL_B vs BL_S	—	—	—
ST vs BL_S	$4.73 \cdot 10^{-14}$	$3.15 \cdot 10^{-8}$	$1.55 \cdot 10^{-6}$
SA vs BL_S	$6.04 \cdot 10^{-5}$	$4.03 \cdot 10^{-6}$	$1.41 \cdot 10^{-5}$
VE vs BL_S	$1.09 \cdot 10^{-7}$	$5.03 \cdot 10^{-5}$	$2.06 \cdot 10^{-9}$

Tabla 1. Los p-valores del test estadístico pareado

La Tabla 2 muestra los resultados de la clasificación. Para cada etapa del procedimiento, i.e. ST, SA, VE, RS fueron seleccionados todos los posibles sujetos con medidas aceptadas (47, 52, 53, 57 respectivamente).

Etapas	Métricas	
	CA \pm std (%)	F1 \pm std (%)
ST vs RS	89.37 ± 3.65	88.25 ± 4.07
SA vs RS	67.89 ± 5.65	66.45 ± 6.06
VE vs RS	85.82 ± 4.71	84.94 ± 5.11

Tabla 2. Las métricas CA y F1 para el clasificador SVM

La Figura 2 representa los diagramas de caja de las características incluidas en la clasificación para cada etapa.

4. Discusión

En este trabajo se han investigado los cambios del QPC de la HRV y la respiración durante el estrés, en particular, a través de las características f_R , D_M y P_e . Basándose en los resultados del análisis estadístico (Tabla 1) las tres características seleccionadas tienen la capacidad de discriminar entre etapas de estrés y relajación. Dos de ellos, ST y VE, tienen las diferencias más significativas respecto al basal. En la etapa SA, el sujeto estaba esperando la evaluación de las tareas anteriores, en contraste con las etapas de ST y VE, en las que existía un estímulo estresante específico. La ausencia de un estímulo estresante concreto en SA podría implicar que esta etapa es menos estresante que ST y VE, lo cual podría explicar que las diferencias significativas sean menores. No se encontraron diferencias significativas entre las dos etapas de relajación (BL_S , BL_B) en las que el sujeto se encuentra en un estado equivalente de estrés basal en ambas sesiones.

Los resultados de la clasificación (Tabla 2), sugieren que las características seleccionadas tienen mayor capacidad de discriminar entre las condiciones de estrés ST (CA = 89.37%) y VE (CA = 85.82%) que en SA. La Figura 2 muestra que el índice f_R tiende a tener valores más altos en las etapas del estrés (ST, VE). Además, con respecto a D_M , los máximos locales que representan otros acoplamientos significativos entre los componentes frecuenciales están más cerca del pico máximo en las condiciones de relajación que en el estrés, hecho que es compatible con la característica P_e . La P_e es menor (relajación) cuando el proceso tiende a ser armónico, mientras que se incrementa (estrés) cuando el proceso se hace más aleatorio.

5. Conclusiones

En este trabajo se han estudiado los cambios en el acoplamiento de la fase cuadrática entre la respiración y la HRV durante estrés mental y emocional usando el wavelet cross-bispectrum (WCB). Algunas de las características derivadas del WCB han demostrado diferencias estadísticamente significativas entre el estrés y la relajación. Entre ellas una característica relacionada con la frecuencia respiratoria logró los mejores resultados (p -valor $< 10^{-13}$). La clasificación basada en características relacionadas con la frecuencia respiratoria, la distribución de energía alrededor del pico máximo y la entropía de la fase discriminó ST de la relajación con una precisión de 89% y VE con una precisión de 86%. Estos resultados apoyan que las interacciones entre la respiración y la HRV se alteran durante el estrés y esta información se puede ser útil para su evaluación.

6. Agradecimientos

Este trabajo está soportado por la Universidad de Zaragoza a través del proyecto UZ2014-TEC-01 del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) y FEDER; por los proyectos FIS-PI12/00514 y TIN2014-53567-R, de CIBER en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina a través Instituto de Salud Carlos III, y por Grupo Consolidado BSICoS de DGA (Aragón) y Fondo Social Europeo (EU).

Referencias

- [1] Selye H. The stress of life, 1957.
- [2] Vrijkotte TG, Van Doornen LJ, De Geus EJ. Effects of work stress on ambulatory blood pressure, heart rate, and heart rate variability. *Hypertension* 2000;35(4):880–886.
- [3] Grossman P. Respiration, stress, and cardiovascular function. *Psychophysiology* 1983;20(3):284–300.
- [4] Hernando A, Lázaro J, Gil E, Arza A, Mario J, López Antón R, de la Cámara C, Laguna P, Aguiló J, Bailón R. Inclusion of respiratory frequency information in heart rate variability analysis for stress assessment. *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics*, 2016;20(4):1016–1025.
- [5] Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation* 1996; 93(5):1043–1065.
- [6] Pompe B, Blidh P, Hoyer D, Eiselt M. Using mutual information to measure coupling in the cardiorespiratory system. *Engineering in Medicine and Biology Magazine IEEE* 1998;17(6):32–39.
- [7] Novak V, Novak P, de Champlain J, Le Blanc AR, Martin R, Nadeau R. Influence of respiration on heart rate and blood pressure fluctuations. *Journal of Applied Physiology* 1993; 74(2):617–626.
- [8] Jamsek J, Stefanovska A, McClintock PV. Nonlinear cardiorespiratory interactions revealed by time-phase bispectral analysis. *Physics in medicine and biology* 2004; 49(18):4407.
- [9] Mateo J, Laguna P. Analysis of heart rate variability in the presence of ectopic beats using the heart timing signal. *Biomedical Engineering IEEE Transactions on* 2003; 50(3):334–343.
- [10] Van Milligen BP, Sanchez E, Estrada T, Hidalgo C, Branas B, Carreras B, Garcia L. Wavelet bicoherence: a new turbulence analysis tool. *Physics of Plasmas* 1994 present 1995; 2(8):3017–3032.
- [11] Chua KC, Chandran V, Acharya R, Lim C. Higher order spectral (hos) analysis of epileptic eeg signals. In *Engineering in Medicine and Biology Society, 2007. EMBS 2007. 29th Annual International Conference of the IEEE. IEEE*, 2007; 6495–6498.

Análisis tiempo-frecuencia para clasificación temprana de fibrilación auricular persistente y persistente de larga evolución

N. Ortigosa¹, O. Cano², A. Galbis³, C. Fernández³

¹ I.U. Matemática Pura y Aplicada, Universitat Politècnica de València, nuorar@upvnet.upv.es

² Servicio de Cardiología, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, cano_osc@gva.es

³ Departament d'Anàlisi Matemàtica, Universitat de València, {antonio.galbis, fernand}@uv.es

Resumen

En este estudio se propone la clasificación precoz de pacientes aquejados de fibrilación auricular persistente o persistente de larga evolución mediante análisis tiempo-frecuencia del electrocardiograma de superficie.

La cohorte del estudio está compuesta por 140 pacientes aquejados de fibrilación auricular (84 persistente y 56 persistente de larga evolución). Sobre el segmento de la señal ECG, correspondiente a la actividad auricular, se propone estudiar las variaciones de fase a lo largo del tiempo para las bandas de frecuencia en las que se concentra la potencia de la actividad auricular, junto con el tiempo entre latidos.

La clasificación se realiza utilizando una máquina de soporte vectorial que ha sido entrenada con 20 pacientes (10 persistentes y 10 persistentes de larga evolución), obteniéndose los siguientes resultados: precisión = 74.16%, sensibilidad = 71.72%, especificidad = 78.26%. Estos resultados apuntan al método propuesto como una ayuda al diagnóstico dirigida a los electrofisiólogos a la hora de elegir el tratamiento más adecuado en cada caso particular de fibrilación auricular.

1. Introducción

La fibrilación auricular es la arritmia más frecuente en la práctica clínica diaria [1,2]. La fibrilación auricular (FA) se caracteriza por una propagación rápida y desorganizada de las señales eléctricas por la aurícula. De este modo, las aurículas y los ventrículos no laten de forma coordinada, creando un ritmo cardíaco rápido e irregular.

Los pacientes que sufren FA se clasifican de acuerdo a la duración de los episodios de arritmia. Existen los subtipos paroxística (aquellos que presentan episodios que remiten de forma espontánea, en un plazo inferior a 7 días), persistente (episodios recurrentes de duración superior a 7 días o que requieren cardioversión para volver a ritmo sinusal), persistente de larga evolución (FA persistente de duración superior a un año), y permanente (aquellos pacientes para los que el ritmo sinusal no puede restablecerse y en los que la arritmia es aceptada tanto por el paciente como por el cardiólogo, llevándose a cabo un tratamiento de control de frecuencia cardíaca en lugar de control de ritmo).

El tratamiento de la FA incluye medicación antiarrítmica, así como ablación por catéter para aislar eléctricamente las venas pulmonares. La eficacia de cada tratamiento depende en gran medida del estado de progresión de la

arritmia [3]. Los pacientes con FA paroxística son los que presentan mayores porcentajes de ausencia de episodios arrítmicos sin medicación antiarrítmica cuando la ablación por catéter es el tratamiento de elección (alrededor del 80%), mientras que la eficacia de este tratamiento se reduce significativamente para los pacientes con FA persistente de larga evolución, para los que no es recomendable debido al remodelado cardíaco que aparece en ellos [4].

La detección de la fibrilación auricular y su clasificación mediante el uso del electrocardiograma de superficie ha sido ampliamente estudiada en diversas referencias [5-7], centrándose mayoritariamente en la diferenciación de los tipos paroxístico y persistente.

La diferenciación entre los tipos persistente y persistente de larga evolución no ha sido estudiada en profundidad todavía. De hecho, además de los trabajos presentados en [8] y [9], no hay referencias previas que se basen en el ECG de superficie para clasificar de forma temprana los pacientes con FA persistente o persistente de larga evolución.

En el presente trabajo presentamos un método para dicha clasificación temprana, basado en las variaciones de fase de la transformada tiempo-frecuencia del ECG, y su posterior clasificación utilizando máquinas de soporte vectorial.

2. Materiales

En este estudio se han utilizado las señales correspondientes a 140 pacientes consecutivos no seleccionados aquejados de fibrilación auricular (84 persistente y 56 persistente de larga evolución).

Los registros fueron adquiridos en la Unidad de Arritmias del Servicio de Cardiología del Hospital Universitari i Politècnic La Fe, de Valencia.

Los tratamientos recibidos por los pacientes (tanto el farmacológico como el invasivo) fueron elegidos a discreción del cardiólogo por el que fueron atendidos, mientras que la categorización de los subtipos de FA fue realizada acorde a las guías clínicas actuales [1,2].

En lo referente a las características clínicas, los pacientes con FA persistente de larga evolución presentaron en

general mayor daño estructural, mayores diámetros de las aurículas izquierdas y, además, habían sido tratados con inhibidores de las ACE y bloqueadores ARBs con mayor frecuencia. La Tabla 1 muestra algunos detalles sobre las características clínicas de la población bajo estudio.

	FA persistente (n=84)	FA persistente larga evolución (n=56)
Edad (media, rango)	63 (47-86)	71 (39-87)
Hombre (n, %)	58 (69%)	32 (64%)
Hipertensión	44 (52%)	43 (77%)
Diabetes	20 (24%)	25 (45%)
Hipercolesterolemia	29 (35%)	24 (43%)
Daño estructural	39 (46%)	44 (79%)
Prótesis valvular	12 (14%)	20 (36%)
Betabloqueantes	39 (46%)	27 (48%)
Amioradona	30 (36%)	17 (30%)
Flecainida/Propafenona	10 (12%)	1 (2%)

Tabla 1. Tabla de características clínicas de la cohorte de pacientes bajo estudio.

3. Métodos

3.1. Preprocesado

En primer lugar se filtra la señal de ECG para eliminar el ruido base (mediante splines cúbicos [10]) así como también el ruido de red (mediante un filtro Notch a 50Hz).

Tras estos filtrados, la actividad auricular es extraída de los ECG mediante la cancelación de la actividad ventricular, dado que las actividades auriculares y ventriculares están desacopladas durante la FA [5]. Para ello, una vez se han detectado los picos R mediante el algoritmo de Pan & Tompkins [11], dichos picos son alineados. A continuación, se realiza un análisis de componentes principales y se sustrae la primera componente principal a cada complejo QRST, eliminando así la actividad ventricular y quedándonos únicamente con la auricular.

3.2. Análisis tiempo-frecuencia

La transformada de Fourier ha sido habitualmente la técnica de elección para realizar el análisis de los registros electrocardiográficos, con el objetivo de obtener información espectral. Sin embargo, dicha transformada no es capaz de proporcionar información acerca de cómo varía el contenido espectral a lo largo del tiempo, lo que supone un inconveniente significativo al analizar señales no estacionarias (como en nuestro caso, el ECG).

Dado que la fibrilación auricular presenta propiedades que dependen del tiempo [12], en este trabajo se propone la utilización del análisis tiempo-frecuencia para extraer

las características que puedan ser significativas para su estudio.

Hay un número diverso de transformadas tiempo-frecuencia, cada una con ciertas ventajas e inconvenientes. Por ejemplo, la forma más sencilla de la transformada de Fourier en tiempo corto consiste en dividir la señal en ventanas de una cierta longitud, habitualmente con solape, y calcular la transformada de Fourier sobre cada una de ellas [13]. Es precisamente la longitud de cada una de estas ventanas la que determina la resolución temporal y frecuencial de la transformada. A medida que la ventana es más corta, mejor resolución temporal presentará el análisis, pero a costa de empeorar la resolución frecuencial, mientras que con ventanas de mayor longitud se mejora la resolución frecuencial, pero se empeora la resolución temporal.

Para intentar proporcionar una solución de compromiso frente al principio de incertidumbre, Stockwell et al. presentaron la transformada de Stockwell en 1996 [14]. Esta transformada ofrece resolución progresiva y referencia global de fase, es decir, puede verse como una transformada de Fourier en tiempo corto en la que la longitud de la ventana varía acorde a la frecuencia. Así, para las bajas frecuencias tenemos ventanas más largas, mientras que para las altas frecuencias el tamaño de la ventana se acorta. La expresión analítica de la transformada de Stockwell es la siguiente:

$$(Sf)(\tau, \nu) = |\nu| \int_{-\infty}^{\infty} g_0(\nu(t - \tau)) e^{-2\pi i \nu t} f(t) dt$$

donde f es la señal sobre la que realizar el análisis y g_0 es una ventana gaussiana.

Lamentablemente, el principal inconveniente que presenta la transformada de Stockwell es su alto coste computacional, así como los elevados requerimientos de memoria. Por este motivo, Brown et al. presentaron en 2010 una implementación eficiente de la transformada de Stockwell basada en un muestreo del espectro tiempo-frecuencia en forma diádica [15]. A esta implementación la han denominado transformada general de la familia Fourier (GFT), y es la que utilizaremos en el estudio presentado en este trabajo.

3.3. Extracción de características

Tras cancelar la actividad ventricular presente en los registros de ECG (en nuestro caso correspondientes a la derivación II), se procedió a realizar el análisis tiempo-frecuencia para extraer las características que eran relevantes para la clasificación. La GFT fue calculada como se detalla en [15], utilizando ventanas gaussianas adaptativas, y posteriormente normalizándose al rango [0,1].

Dado que publicaciones recientes han apuntado a que las variaciones de fase del ECG de pacientes con fibrilación auricular persistente son mayores a las de los pacientes con fibrilación auricular paroxística [16,17], en este trabajo hemos estudiado si dichas variaciones son todavía mayores en los casos con fibrilación auricular persistente de larga evolución.

Para ello, hemos analizado las variaciones de fase para aquellas franjas de frecuencia en las que se concentra la potencia media de la actividad auricular [1.71-7.57Hz] [18]. Así, extraemos la norma L^1 de la fase de las variaciones de la transformada GFT para cada banda de frecuencia que sea significativa en la actividad auricular. Esto es, si denotamos como $\{a_{b1}, a_{b2}, \dots, a_{bN}\}$ los coeficientes correspondientes al muestreo del espacio tiempo-frecuencia (donde b hace referencia a la banda de frecuencia y N es el número de muestras del eje temporal). Consideramos las variaciones de fase $\sum_{k=1}^{k=N-1} |\varphi_k|$, donde $z_k e^{i\varphi_k} = a_{bk-1} - a_{bk}$, $z_k \geq 0$, y $-\pi \leq \varphi_k \leq \pi$.

Además, hemos aplicado pesos β para enfatizar aquellas variaciones de fase que sean mayores en aquellos casos en los que eran superiores a α -veces la media de las variaciones para cada banda de frecuencia. Por tanto, además de la distancia entre picos R extraída durante el proceso de cancelación de la actividad ventricular, las características utilizadas en este estudio son las siguientes:

$$C_p = \begin{cases} \sum_{k=1}^{k=N-1} |\varphi_k|, & \text{si } \sum_{k=1}^{k=N-1} |\varphi_k| < \alpha_p \frac{\sum_{k=1}^{k=N-1} |z_{k+1} - z_k|}{N} \\ \beta_p \sum_{k=1}^{k=N-1} |\varphi_k|, & \text{si } \sum_{k=1}^{k=N-1} |\varphi_k| \geq \alpha_p \frac{\sum_{k=1}^{k=N-1} |z_{k+1} - z_k|}{N} \end{cases}$$

donde $p = 4,5$ son las bandas de frecuencia de la transformada GFT en las que se concentra la energía de la actividad auricular (hasta 8Hz). Los valores de los parámetros α_p y β_p han sido elegidos de forma experimental y su obtención se detalla en la sección 4.

3.4. Clasificación

En este estudio la clasificación se ha realizado mediante una máquina de soporte vectorial que ha sido entrenada con 20 pacientes (10 persistentes y 10 persistentes de larga evolución) para maximizar la precisión global. La implementación se ha realizado en MatLab, con un kernel no lineal gaussiano (*radial basis function*).

4. Resultados

El proceso de entrenamiento del clasificador se ha realizado con 20 pacientes, los cuales responden a aquellos clínicamente más significativos (entendiéndose como estos a aquellos pacientes que no presentan cardiopatía estructural, prótesis valvular ni hipertrofia ventricular izquierda significativa para evitar que estas características clínicas puedan interferir en los resultados).

Los parámetros α y β fueron determinados mediante experimentación extensiva y búsqueda iterativa, hasta la optimización de ambos. Los valores óptimos para β_p fueron establecidos en 2.8, mientras que los valores óptimos para α_p fueron $\alpha_4 = 1.4$ y $\alpha_5 = 1.2$, para las dos bandas de frecuencia significativas (que cubren el rango hasta los 8Hz).

Los resultados de clasificación han sido medidos por las variables precisión, sensibilidad y especificidad (siendo estas dos últimas la proporción de pacientes persistentes y persistentes de larga evolución correctamente clasificados, respectivamente).

La Tabla 2 muestra los resultados de clasificación para la cohorte de pacientes bajo estudio y para el conjunto de test (74 persistentes y 46 persistentes de larga evolución), mientras que la Figura 1 muestra la curva ROC para el clasificador.

	Precisión	Sensibilidad	Especificidad
Cohorte completa	0.7643	0.7381	0.8036
Conjunto de test	0.7416	0.7162	0.7826

Tabla 2. Resultados de clasificación para la cohorte completa de pacientes y únicamente para el conjunto de test.

En los resultados anteriores puede observarse que los valores de sensibilidad y especificidad son equilibrados, a pesar de la heterogeneidad de tratamientos antiarrítmicos aplicados a los pacientes. Precisamente un valor añadido del estudio es la cohorte de pacientes analizada, con diferente progresión, daños estructurales, comorbilidades o tratamientos. Esta diversidad hace referencia a la presencia de factores de riesgo cardiovascular (hipertensión arterial, diabetes mellitus, dislipemia, etc.), así como a la presencia de cardiopatías estructurales y diferentes fármacos antiarrítmicos prescritos a los pacientes (detalles en Tabla 1).

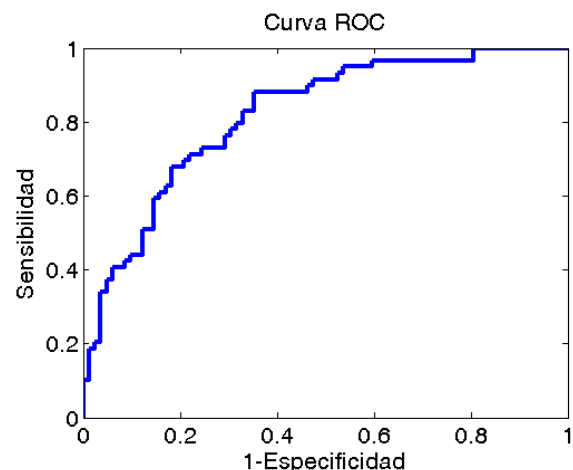


Figura 1. Curva ROC obtenida con los resultados de clasificación. El área bajo la curva ROC es 0.8189.

La Tabla 3 detalla los resultados de clasificación para diferentes subconjuntos de pacientes, agrupados por la ausencia de diferentes características que pueden modificar el comportamiento eléctrico de la onda fibrilar, y que pueden llevar a cabo a clasificaciones erróneas. Puede observarse como dichos resultados mejoran con respecto a los presentados en la Tabla 2.

	Precisión	Sensibilidad	Especificidad
Sin daño estructural	0.8095	0.7879	0.8889
Sin cardioversión previa	0.8	0.7742	0.8235
Sin dilatación aurícula izqda.	0.85	0.8125	1
Sin antiarrítmicos	0.8108	0.7846	0.75

Tabla 3. Resultados de clasificación para el conjunto de test de pacientes en ausencia de diversas características clínicas.

5. Conclusiones

En este trabajo se ha presentado un estudio cuyo objetivo es la clasificación temprana de pacientes con fibrilación auricular persistente o persistente de larga evolución por medio del análisis tiempo-frecuencia de los registros electrocardiográficos.

Actualmente la clasificación clínica de la fibrilación auricular se realiza una vez se ha visto la progresión de la arritmia. Los resultados presentados pueden representar una herramienta de ayuda clínica para elegir el tratamiento más adecuado en cada caso, o reducir la tasa de aplicación de la ablación por catéter en aquellos pacientes que estén en un estado persistente de larga evolución, para los que el éxito de esta técnica manteniendo el ritmo sinusal a largo plazo es bajo.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Generalitat Valenciana en el proyecto PrometeoII/2013/013, y por el MINECO en el proyecto MTM2013-43540-P.

Referencias

[1] Wann L, Curtis A, January C, Ellenbogen K, Lowe J, Estes N, Ezekowitz M, Slotwiner D, Jackman W, Stevenson W, C.M Tracy; 2011 Writing Group Members VF, Rydén L, Cannom D, Heuzey JL, Crijns H, Lowe J, Curtis A, Olsson S, Ellenbogen K, Prystowsky E, Halperin J, Tamargo J, Kay G, L.Wann; 2006 Writing Committee Members AJ, Anderson J, Albert N, Hochman J, Buller C, Kushner F, Creager M, Ohman E, Ettinger S, Stevenson W, Guyton R, Tarkington L, Halperin J, Yancy C. 2011 ACCF/AHA/HRS focused update on the management of patients with atrial fibrillation (updating the 2006 guideline): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*, vol 123, sup. 1, 2011, pp 104-123.

[2] January C, Wann L, Alpert J, Calkins H, Cigarroa J, Cleveland J, Conti J, Ellinor P, Ezekowitz M, Field M, Murray K, Sacco R, Stevenson W, Tchou P, Tracy C, Yancy C. 2014 AHA/ACC/HRS Guideline for the Management of Patients With Atrial Fibrillation. A Report of the American College of Cardiology/American Heart

Association Task Force on Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society. *J Am Coll Cardiol*, vol 64, sup. 21, 2014, pp e1-e76.

[3] Melichercik J. New frontiers in the evaluation and treatment of patients with atrial fibrillation. *Biomed. Tech.* vol 57, sup 1, 2012, pp 382.

[4] Calkins H, Kuck K, Cappato R, Brugada J, Camm A, Chen SA, et al. 2012 HRS/EHRA/ECAS Expert Consensus Statement on Catheter and Surgical Ablation of Atrial Fibrillation: Recommendations for Patient Selection, Procedural Techniques, Patient Management and Follow-up, Definitions, Endpoints, and Research Trial Design. *Heart Rhythm*, vol 9, sup 4, 2012, 632-696.

[5] Alcaraz R, Sandberg F, Sörmmo L, Rieta J. Classification of Paroxysmal and Persistent Atrial Fibrillation in Ambulatory ECG Recordings. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol 58, sup 5, 2011, pp 1441-1449.

[6] Sandberg F, Stridh M, Sörmmo L. Frequency Tracking of Atrial Fibrillation Using Hidden Markov Models. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol 55, sup 2. 2008, pp 502-511.

[7] Nilsson F, Stridh M, Bollmann A, Sörmmo L. Predicting spontaneous termination of atrial fibrillation using the surface ECG. *Med. Eng. Phys.*, vol 28, sup 1, 2006, pp 802-808.

[8] Uldry L, Zaen JV, Prudat Y, Kappenberger L, Vesin J. Measures of spatiotemporal organization differentiate persistent from long-standing atrial fibrillation. *Europace*, vol 14, sup 8, 2012, pp 1125-1131.

[9] Ortigosa N, Fernández C, Galbis A, Cano O. Classification of persistent and long-standing persistent atrial fibrillation by means of surface electrocardiograms. *Biomed. Eng.-Biomed. Tech.*, vol 61, sup 1, 2016, pp 19-27.

[10] Meyer CR, Keiser HN. Electrocardiogram baseline noise estimation and removal using cubic splines and statespace computation techniques. *Comput. Biomed. Res.*, vol 10, 1977, pp 459-470.

[11] Pan J, Tompkins W. A real-time QRS detection algorithm. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol 32, sup 3, 1985, pp 230-236.

[12] Rieta J, Alcaraz R. Atrial Fibrillation - Mechanisms and Treatment (Chapter 7: Applications of Signal Analysis to Atrial Fibrillation). Intech, 2013.

[13] Cohen L. Time-Frequency analysis. Boston, MA: Prentice Hall, 1995.

[14] Stockwell R, Mansinha L, Lowe, RP. Localization of the complex spectrum: The S transform. *IEEE Trans. Signal Process.*, vol 44, sup 4, 1996, pp 998-1001.

[15] Brown R, Lauzon M, Frayne R. A general description of linear time-frequency transforms and formulation of a fast, invertible transform that samples the continuous S-transform spectrum nonredundantly. *IEEE Trans. Signal Process.*, vol 58, sup 1, 2010, pp 281-290.

[16] Ortigosa N, Cano O, Ayala G, Galbis A, Fernández C. Atrial fibrillation subtypes classification using the General Fourier-family Transform. *Med. Eng. Phys.*, vol 36, sup 4, 2014, pp 554-560.

[17] Ortigosa N, Fernández C, Galbis A, Cano O. Phase information of time-frequency transforms as a key feature for classification of atrial fibrillation episodes. *Physiol. Meas.*, vol 36, sup 36, 2015, pp 409-424.

[18] Salinet J, Madeiro J, Cortez P, Stafford P, Andre G, Schlindwein F. Analysis of QRS-T subtraction in unipolar atrial fibrillation electrograms. *Med. Biol. Eng. Comput.*, vol 51, sup 12, 2013, pp 1381-1391.

[19] Chang C, Lin C. LIBSVM: A library for support vector machines. *ACM Transactions on Intelligent Systems and Technology*, vol 2, sup 3, 2011, pp 27:1-27:27.

Sistema de obtención y procesado de *Mismatch Negativity* en modelo animal de encefalopatía hepática mínima

M. Lavilla Miyasato, R. Magdalena Benedito¹, V. Felipe Ortiz², J.F. Ordoño Domínguez³, C. Montoliu Félix⁴, R. García García², J. Guerrero Martínez¹

¹Departamento de Ingeniería Electrónica, Universidad de Valencia, Valencia, España, {rafael.magdalena, juan.guerrero}@uv.es

²Laboratorio de Neurobiología, Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia, España, {vfelipo, rgarciag}@cipf.es

³Servicio de Neurofisiología, Hospital Arnau de Vilanova, Valencia, España, ordoño_jua@gva.es

⁴Laboratorio de Deterioro Neurológico, Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA, Valencia, España, cmontoliu@cipf.es

Resumen

La *Mismatch Negativity* (MMN) o Potencial de disparidad, es la diferencia existente entre los potenciales evocados por estímulos auditivos repetitivos (standard) y los producidos por estímulos infrecuentes diferentes (deviant).

A diferencia de los potenciales evocados endógenos, la MMN se obtiene independientemente del grado de atención del sujeto, por lo que se ha aplicado en numerosos ámbitos como psiquiatría, neurología, neuropediatría y neurofisiología. En el caso de la encefalopatía hepática mínima (EHM), se ha utilizado para el diagnóstico de pacientes cirróticos que presentan deterioro cognitivo leve.

En el presente trabajo se plantea la implementación de un sistema de estimulación y adquisición de potenciales MMN para su aplicación en animales de laboratorio a los que se les ha inducido EHM. Como conclusiones podemos destacar: a) el sistema desarrollado permite evocar la aparición del potencial de disparidad MMN en ratas; b) los resultados preliminares obtenidos para los parámetros analizados muestran la viabilidad del modelo animal de encefalopatía hepática mínima.

1. Introducción

Cuando un estímulo auditivo alcanza el oído, produce una secuencia de cambios eléctricos neuronales, desde la excitación de los órganos receptores auditivos periféricos, siguiendo por la vía auditiva, hasta su llegada a la corteza.

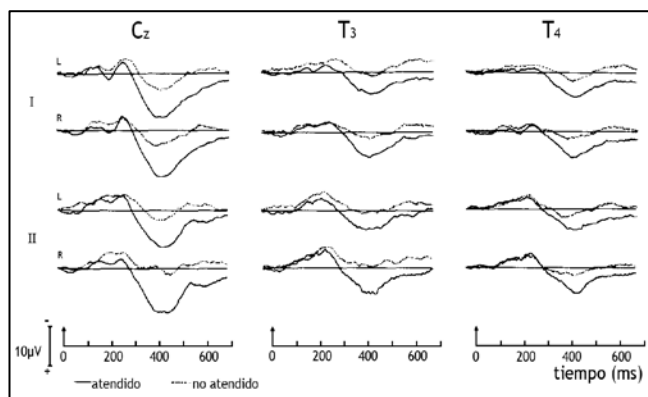


Figura 1. MMN observada por Näätänen et al. en 1978. Electrodo situado en las zonas central (Cz) y temporal (T₃ y T₄).

Cuando la monotonía de una estimulación auditiva repetida en el tiempo se interrumpe por un estímulo auditivo diferente a los predecesores (usualmente denominado

estímulo “deviant”), se produce un potencial evocado (PE) similar al provocado por el estímulo repetido (conocido como estándar) pero con un aumento del potencial negativo y del campo magnético a los 100-200ms en seres humanos después del estímulo. En 1978 Näätänen et.al [1] sustrajeron el PE generado por los sonidos estándar al PE generado por el sonido deviant, de tal manera que los componentes exógenos se cancelaban pero se obtenía una onda diferencial a la que denominaron *mismatch negativity* (MMN).

En general, cualquier modificación en alguno de los atributos de los estímulos diferentes respecto a los estímulos estándar provoca la evocación de la MMN. Así, se han registrado MMNs realizando variaciones en la duración, el tono, la intensidad o la localización espacial del estímulo diferente.

Desde su descubrimiento se han realizado numerosos estudios dirigidos a comprobar la validez de este potencial para su aplicación clínica. Fundamentalmente ha sido de gran utilidad en psiquiatría, neurología, neuropediatría y neurofisiología para el estudio de diversas patologías [2,3,4,5,6].

La encefalopatía hepática (EH) es un síndrome neuropsiquiátrico complejo que se da en pacientes con enfermedades hepáticas crónicas o agudas que a su vez provocan una alteración funcional del sistema nervioso central. Existe un elevado porcentaje de pacientes cirróticos (del 30 al 50%) que no muestran síntomas de encefalopatía hepática pero que sí presentan encefalopatía hepática mínima (EHM) con deterioro cognitivo leve. La EHM implica una disminución en la calidad de vida de los pacientes, un aumento del riesgo de sufrir accidentes de todo tipo (domésticos, laborales y de tráfico) y es un estadio previo a la aparición de EH clínica. Por todo ello, la EHM supone, en definitiva, una disminución de la esperanza de vida [7].

El *gold standard* para el diagnóstico de la EHM en estos pacientes es una batería de 5 test psicométricos pero la mayoría de los pacientes no suelen ser diagnosticados. Por ello, es necesario buscar nuevos biomarcadores electrofisiológicos para el diagnóstico y seguimiento de enfermedades neurológicas, siendo la MMN un candidato idóneo para el diagnóstico de la EHM.

Estudios previos [8] muestran que los pacientes afectados de encefalopatía hepática mínima presentan una alteración

en la morfología de la MMN. El objetivo del presente trabajo es desarrollar un sistema de estimulación y adquisición de potenciales MMN que pueda aplicarse en animales de laboratorio para la obtención de un modelo animal de la patología que permita profundizar en las causas de estas alteraciones y su significado.

2. Material y métodos.

2.1. Sistema de estimulación y adquisición

Se ha desarrollado un sistema para inducir potenciales MMN en los sujetos y capturar la actividad electroencefalográfica correspondiente. Este sistema está compuesto de los siguientes módulos:

- Módulo de estimulación. Es el encargado de generar los estímulos auditivos para provocar en el sujeto la aparición del potencial MMN.
- Módulo de adquisición. Realiza la recogida de la actividad electroencefalográfica y su almacenamiento en formato digital
- Módulo de procesado. Genera los potenciales MMN a partir de los registros adquiridos y obtiene los parámetros característicos.

Módulo de estimulación

Para emitir los estímulos auditivos que provoquen la aparición del potencial MMN en los sujetos a estudio, se ha elaborado una aplicación software para el control de una tarjeta de sonido "SoundMAX Integrated Digital Audio", desarrollado para plataformas Microsoft Windows® y que permite la configuración de los siguientes parámetros:

- Frecuencia mínima de los sonidos emitidos.
- Patrón de las series de estímulos (ascendente, descendente o ascendente-descendente)
- Intervalo entre tonos (estímulos)
- Intervalo entre series
- Configuración del uso del puerto paralelo

El sistema de estimulación utiliza los pines 0 y 1 del puerto paralelo para emitir señales de sincronía de forma que queden identificados los instantes en que se producen las respuestas estándar y *deviant*, información necesaria para realizar el análisis posterior (figura 2).

Módulo de adquisición

Este módulo permite capturar la actividad electroencefalográfica producida por la generación de la serie de estímulos auditivos que evocan la aparición de la MMN, con capacidad para 4 canales EEG.

El sistema está compuesto por los siguientes elementos:

- Conector implantable en la cabeza de la rata. El conector consta de 6 electrodos.
- Bioamplificador. Se trata de un amplificador de señales biológicas A-M Systems Differential AC Amplifier Model 1700, con ganancia configurable de hasta 10000x, filtro pasa-baja desde 0,1 Hz a 300 Hz, filtro pasa-alta de 500 Hz a 20 kHz, filtro elimina-banda de 50 Hz y CMRR > 80 dB
- Conversor analógico-digital National Instruments NI-USB 6211, con capacidad para 8 señales diferenciales

o 16 unipolares, resolución de 16 bits.

- Componente software elaborado con la plataforma Labview®, de National Instruments®, que gestiona el conversor analógico-digital y almacena las muestras en el registro de datos.
- PC sobre el que se ejecuta la plataforma Labview®.

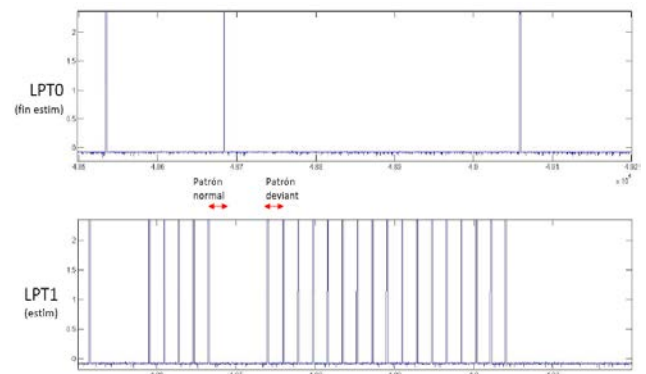


Figura 2. Canales de sincronización de estímulos. LPT0 genera un pulso por cada fin de tren, y LPT1 por cada estímulo del tren.

Módulo de procesado

Las tareas realizadas por este módulo son las siguientes:

- Determinar las referencias temporales para los patrones normales y *deviant* a partir de los canales de sincronía incluidos en el registro de datos.
- Obtención de los patrones normal y *deviant* mediante promediado. Duración del patrón: 350ms, empezando 50ms antes del inicio del estímulo. Determinación del patrón diferencia (MMN).
- Incorporación de los límites del potencial MMN marcados por el experto.
- Obtención del espectro paramétrico (Burg, $p=20$) de los patrones.
- Cálculo de los parámetros:
 1. Amplitud absoluta del pico máximo entre marcas del experto (PM-AMP).
 2. Posición del pico máximo (latencia: PM-POS).
 3. Área bajo la curva entre marcas del experto (AREA).
 4. Desviación estándar de la media de respuestas normales (mstd-pN).
 5. Desviación estándar de la media de respuestas *deviant* (mstd-pD).
 6. Desviación estándar de la media de respuestas MMN (mstd-pMMN).
 7. PRD (*Percentage Root mean square Difference*) entre respuestas normal y *deviant*.
 8. Frecuencia dominante del espectro del patrón normal (FD-N).
 9. Frecuencia dominante del espectro del patrón *deviant* (FD-D).
 10. Frecuencia dominante del espectro del patrón MMN (FD-MMN).

2.2. Procedimiento experimental

Para el modelo experimental de la patología, se han utilizado ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) a las que se les induce una hiperamonemia (HA) crónica sin fallo hepático

mediante una dieta rica en acetato amónico durante 6-7 semanas [9]. La HA es el principal factor contribuyente a las alteraciones neurológicas en pacientes con EHM. Los modelos animales de HA crónica reproducen la mayoría de las alteraciones neurológicas de esta enfermedad. Los procedimientos seguidos fueron supervisados y aprobados por el Comité de ética y experimentación animal del Centro de Investigación Príncipe Felipe, siguiendo la legislación española y europea (Directive 2010/63 / EU).

La cirugía para implantar el conector con los correspondientes electrodos en la cabeza de la rata se realizó al menos con 10 días de antelación a la realización de la prueba. Los electrodos se insertaron en las siguientes áreas:

- Corteza prelímbica (PrL).
- Hipocampo (CA1).
- Corteza auditiva (AU1).
- Núcleo del colículo inferior (CIC).
- Cráneo (referencia).

Las ratas se anestesiaron para la ejecución de la prueba mediante una inyección intraperitoneal de hidrato de cloral al 4% 10 minutos antes del comienzo.

Para la realización de la prueba se introdujeron las ratas en una caja metálica, que actúa como pantalla de Faraday, y que contiene un altavoz para la emisión de los estímulos auditivos (figura 3).

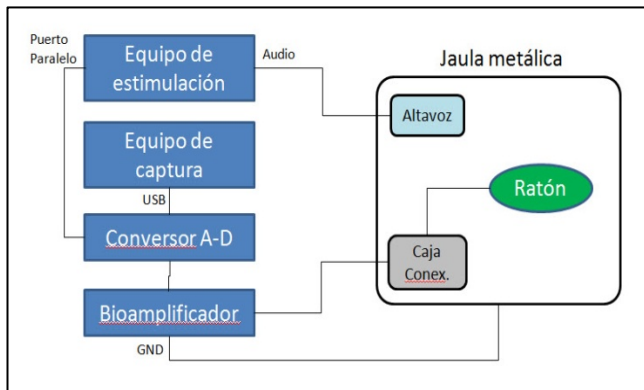


Figura 3. Disposición de los distintos elementos del sistema de estimulación y adquisición MMN.

El sistema de estimulación se ajustó con los siguientes parámetros:

- Frecuencia mínima de los sonidos emitidos: 750 Hz
- Número de muestras a recoger: 475.
- Intervalo entre estímulos: 50 ms
- Intervalo entre series: 300 ms
- Patrón de las series de estímulos: Ascendente

3. Resultados

Para comprobar el funcionamiento del sistema desarrollado, se obtuvieron resultados para tres ratas pertenecientes al

grupo control (GC) y tres con hiperamonemia crónica inducida (GHA). Las figuras 4 y 5 muestran ejemplos de los patrones y sus correspondientes espectros, obtenidos para los cuatro canales de un registro. La figura 6 muestra los valores medios por grupos correspondientes a los 10 parámetros calculados para cada canal.

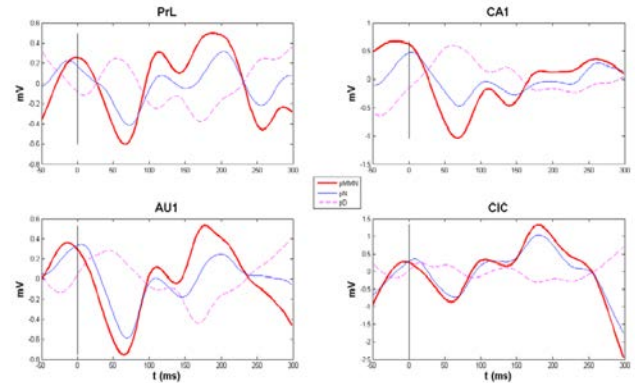


Figura 4. Ejemplo de patrones de respuesta normal (pN), deviant (pD) y MMN (pMMN) para cada canal de uno de los registros analizados.

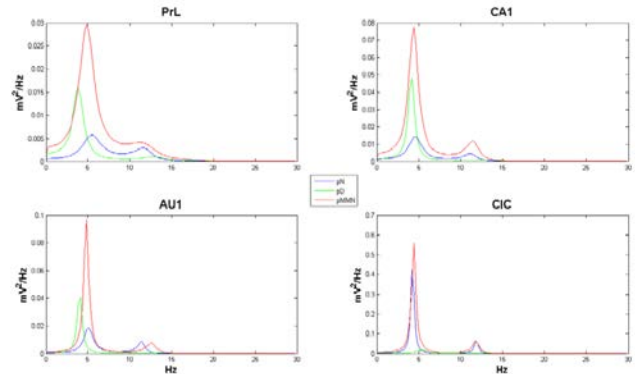


Figura 5. Ejemplo de espectros de los patrones de respuesta normal (pN), deviant (pD) y MMN (pMMN) para cada canal del mismo registro de la figura 4.

Los resultados obtenidos para los parámetros usualmente utilizados en el modelo humano [8], la amplitud (PM-AMP), latencia (PM-POS) y el área (AREA) del PE, muestran que en el modelo animal PM-AMP y AREA son mayores en el GC para todos los canales, coincidiendo con lo observado en el modelo humano.

Respecto del resto de parámetros propuestos, también mstd-pN, mstd-pD y mstd-pMMN son mayores en el GC respecto del GHA. La diferencia es claramente mayor en el caso del canal localizado en corteza auditiva (CA1). La frecuencia dominante espectral de la respuesta MMN (FD-MMN) presenta valores mayores en el GHA para todos los canales, al igual que la correspondiente a la respuesta normal (FD-N) excepto para el canal localizado en el núcleo del colículo inferior (CIC).

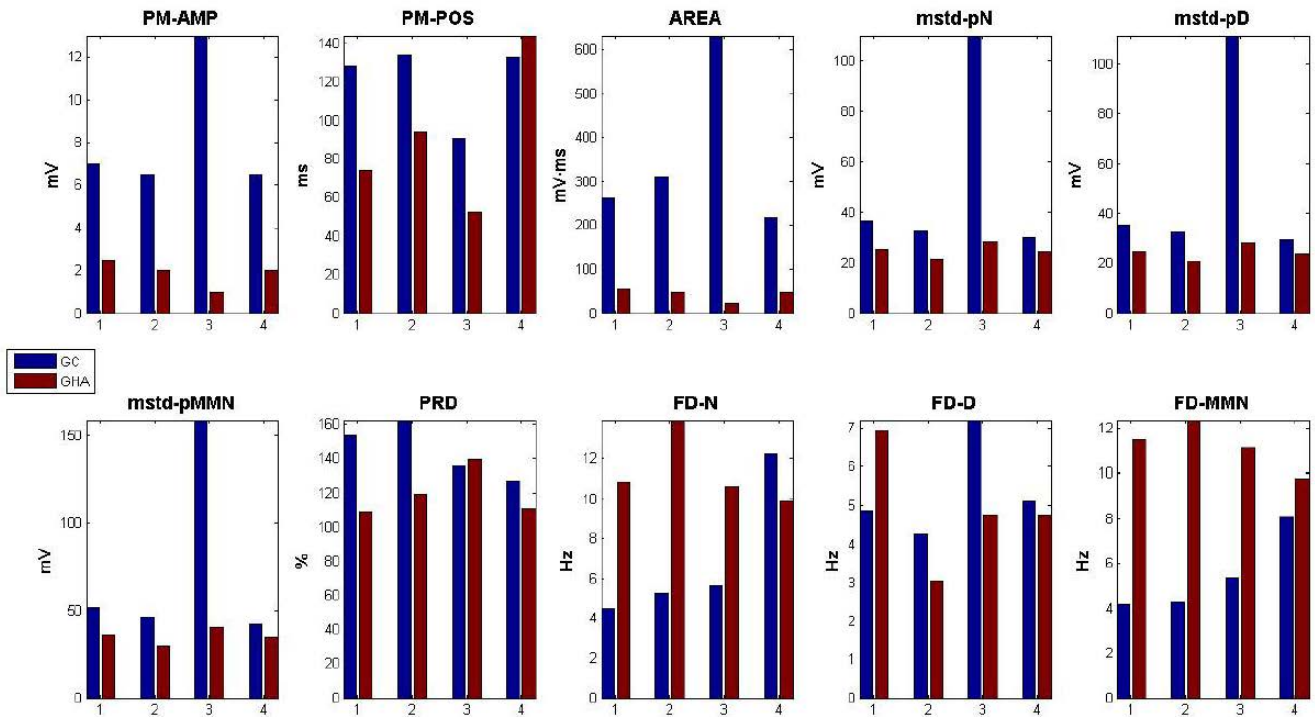


Figura 6. Valores medios de los parámetros calculados para cada canal y los dos grupos, control (GC) e hiperamonémico (GHA). Eje X: canales (1:PrL, 2:CAI, 3:AUI, 4:CIC).

4. Conclusiones

En el presente trabajo se ha descrito la implementación de un sistema de estimulación y adquisición de potenciales MMN para su aplicación en animales de laboratorio. Como conclusiones podemos destacar: a) el sistema desarrollado permite evocar la aparición del potencial de disparidad MMN en ratas; b) los resultados preliminares obtenidos para los mismos parámetros utilizados en el modelo humano muestran, a falta de pruebas más completas con un número mayor de individuos, la viabilidad del modelo experimental de encefalopatía hepática mínima.

Referencias

- [1] Näätänen, R., Gaillard, A., & Mäntisalo, S. Early selective-attention effect on evoked potential reinterpreted. *Acta Psychologica*, vol42,1978, pp 313-29 (ISSN: 0001-6918).
- [2] Näätänen, R; Shiga, T; Asano, S; Yabe, H. Mismatch negativity (MMN) deficiency: A break-through biomarker in predicting psychosis onset. *International Journal of Psychophysiology*. 2015 pp338-44 (ISSN: 0167-8760).
- [3] Pekkonen, E., Jousmäki, V., Könönen, M., Reinikainen, K., & Partanen, J. Auditory sensory memory impairment in Alzheimer's disease: an event-related potential study. *Neuroreport*, vol 5 (18), 1994, pp 2537-40 (ISSN: 0959-4965)
- [4] Leppänen, P. H., Richardson, U., Pihko, E., Eklund, K. M., Guttorm, T. K., Aro, M., et al. Brain Responses to Changes in Speech Sound Durations Differ Between Infants With and Without Familial Risk for Dyslexia. *Developmental Neuropsychology*, vol 22 (1), 2002, pp 407-422 (ISSN: 1532-6942).
- [5] Daltrozzo, J., Wioland, N., Mutschler, V., & Kotchoubey, B. Predicting coma and other low responsive patients outcome using event-related brain potentials: a meta-analysis. *Clinical Neurophysiology*, vol 118 (3), 2007, pp 606-614 (ISSN: 1388-2457)
- [6] Zarza-Luciáñez, D., Arce-Arce, S., Bhathal, H., & Sanjuán-Martín, F. Mismatch negativity y nivel de conciencia en el traumatismo craneoencefálico grave. *Revista de neurología*, vol 44 (8), 2007, pp 465-8 (ISSN: 0210-0010)
- [7] Montoliu, C., Cauli, O., Urios, A., ElMlili, N., Serra, M. A., Giner-Duran, R., et al. 3-nitro-tyrosine as a peripheral biomarker of minimal hepatic encephalopathy in patients with liver cirrhosis. *The American Journal of Gastroenterology*, 106 (9), 2011, pp 1629-37 (ISSN: 0002-9270)
- [8] Felipo, V., Ordoño, J. F., Urios, A., El Mlili, N., Giménez-Garzó, C., Aguado, C., et al. Patients with minimal hepatic encephalopathy show impaired mismatch negativity correlating with reduced performance in attention tests. *Hepatology*, vol 55 (2), 2012, pp 530-9 (ISSN: 0270-9139).
- [9] Felipo V, Miñana MD, Grisolia S. Long term ingestion of ammonium increases acetylglutamate and urea levels without affecting the amount of carbamyl phosphate synthase. *Eur J Biochem* 1988; 176:567-571.

Caracterización de la señal de presión intracraneal empleando la divergencia de Jensen

M. García Gadañón¹, J. Poza Crespo¹, D. Santamarta Gómez², A. Bachiller Matarranz¹, R. Hornero Sánchez¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, {margar, jespoz, robhor}@tel.uva.es, bachillermatarranz@gmail.com

² Servicio de Neurocirugía, Hospital de León, León, España, dsantamartag@saludcastillayleon.es

Resumen

La hidrocefalia se caracteriza por síntomas clínicos, ventriculomegalia y alteraciones en la circulación del líquido cefalorraquídeo (LCR). Los tests de infusión se utilizan para analizar las alteraciones en la circulación del LCR en pacientes con hidrocefalia. En ellos, se eleva la presión intracraneal (PIC) de un paciente de forma controlada y se monitoriza la presión resultante. En este trabajo se analizaron 112 señales PIC recogidas durante tests de infusión realizados a pacientes con hidrocefalia. Para ello, se empleó una representación tiempo-escala de las señales a través de la transformada wavelet y se calculó la divergencia de Jensen (DJ). Cada señal se dividió en cuatro fases: basal, inicio de infusión, meseta y recuperación. Para cada fase se calculó la media ($\langle DJ \rangle$) y la desviación típica ($SD[DJ]$) de la DJ en dos bandas de frecuencia (B_1 : 0.15-0.3 Hz y B_2 : 0.67-2.5 Hz). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 1.7 \times 10^{-3}$, test de Wilcoxon con corrección de Bonferroni) entre fases del test de infusión en la banda B_2 , relacionada con la componente cardiaca de la señal PIC. Estos resultados sugieren una pérdida de irregularidad y variabilidad de la señal PIC como resultado del aumento de presión inducido por el test de infusión.

1. Introducción

La señal de presión intracraneal (PIC) es fundamental en el diagnóstico y tratamiento de pacientes con daño cerebral severo, hidrocefalia y desórdenes en la circulación del líquido cefalorraquídeo (LCR) [1]. Los tests de infusión son estudios hidrodinámicos que se realizan de forma rutinaria para analizar la dinámica del LCR en pacientes que presentan características de hidrocefalia [1, 2]. En ellos, se introduce un fluido en el espacio ventricular o subaracnoideo de forma que la PIC se eleva de forma controlada [1]. La PIC resultante se registra en la región lumbar y ayuda a determinar si la tasa de reabsorción del LCR es capaz de soportar el ritmo de producción. En pacientes con hidrocefalia, estos tests ayudan a determinar si es necesaria la implantación quirúrgica de una derivación o *shunt*, aunque también se ha demostrado su utilidad en el estudio de la respuesta hemodinámica asociada con el incremento de la PIC [3].

Algunos autores estudiaron la señal PIC empleando métodos de análisis no lineal [1,4] y de análisis espectral [5,6]. Como alternativa, en estudios recientes se propuso el análisis de las señales PIC empleando la transformada wavelet (TW) [7-9]. La aplicación de esta metodología es

apropiada dado el carácter no lineal, no estacionario y multiescala de la dinámica cerebral [7].

En este trabajo se empleó la TW para caracterizar el espectro de señales PIC recogidas durante estudios de infusión en pacientes con hidrocefalia. Para ello se empleó la wavelet Morlet compleja. A continuación, se calculó la divergencia de Jensen (DJ) para estudiar las distintas etapas del test de infusión en dos bandas de interés. La DJ es un parámetro derivado de la teoría de la información que puede ser útil para analizar los patrones de irregularidad en los episodios de hipertensión intracraneal inducidos por los tests de infusión. Por tanto, los objetivos del trabajo fueron: (i) analizar los patrones de irregularidad en la señal de ICP en base a la DJ, (ii) estudiar si la DJ revela diferencias entre las fases del test de infusión y (iii) introducir una forma alternativa para el estudio de las señales de ICP recogidas durante estudios de infusión empleando la TW.

2. Señales y recogida de datos

Se creó una base de datos de señales PIC de 112 sujetos (65 hombres y 47 mujeres, edad 69.36 ± 13.97 años, media \pm desviación típica, SD) registradas durante tests de infusión en el Servicio de Neurocirugía del Hospital de León. En todos ellos se observó dilatación ventricular (índice de Evans ≥ 0.30). Los pacientes mostraban síntomas relacionados con la tríada de Hakim: trastornos de la marcha, deterioro cognitivo e incontinencia urinaria [9]. Se obtuvo el consentimiento de los pacientes o de un familiar para participar en el estudio.

Los tests de infusión se realizaron empleando una variante del método de Katzman y Hussey [2]. Bajo anestesia local y con los pacientes en posición de decúbito lateral, se insertaron dos agujas en la región lumbar. La primera se conectó a una bomba de infusión (Lifecare[®] 5000, Abbott Laboratories). La segunda se conectó a un microtransductor de presión (Codman[®] MicroSensorTM ICP transducer, Codman & Shurtleff). La señal de presión de la salida analógica del microtransductor se amplificó (ML110 Bridge amplifier) y se digitalizó (PowerLab 2/25 Data Recording System ML825, ADI Instruments). El conversor analógico/digital se conectó también a un ordenador con el fin de visualizar y recoger las señales PIC. Tras medir la presión basal durante 5 minutos, se

procedió a la infusión con una solución Ringer a un ritmo de 1.5 ml/min hasta alcanzarse una etapa de meseta. En ese momento la infusión se detuvo y se continuó con el registro de la PIC hasta que la presión descendió. Para cada señal, un neurocirujano definió 4 épocas libres de artefactos coincidiendo con las fases del test de infusión:

- Época 0 (E_0): asociada con la fase basal.
- Época 1 (E_1): corresponde al comienzo de la infusión y en ella se aprecia una pendiente ascendente.
- Época 2 (E_2): asociada a la fase de meseta.
- Época 3 (E_3): representa la fase final de recuperación y suele mostrar una pendiente descendente.

Las señales se muestrearon a una frecuencia de 100 Hz y se filtraron empleando un filtro *software* entre 0.02 Hz y 5 Hz. La elección de este rango de frecuencias preservó el contenido espectral relevante de la señal PIC y minimizó el efecto de la componente DC [9].

3. Métodos

3.1. Transformada *wavelet*

La TW se puede emplear para analizar señales de resolución variable en el plano tiempo-frecuencia. Se basa en descomponer la señal de interés, $x(t)$, a partir de la traslación y escalado de una función *wavelet* madre, $\psi(t)$ [10,11]. Los coeficientes *wavelet*, $W(\tau, s)$ representan una medida de similitud entre la versión escalada y trasladada de la *wavelet* madre y la señal $x(t)$ en el instante de tiempo τ y para la escala s [9].

Existen diferentes *wavelets* madre que se pueden emplear para el análisis de señales. En este caso, se utilizó la *wavelet* Morlet compleja, puesto que con ella se obtuvieron previamente resultados prometedores en el análisis de señales PIC [7]. Se puede definir como [7]:

$$\psi(t) = \frac{1}{\sqrt{\pi}\Omega_b} \cdot \exp(j2\pi\Omega_c t) \cdot \exp\left(\frac{-t^2}{\Omega_b}\right), \quad (1)$$

donde Ω_c representa la frecuencia central de la *wavelet* y Ω_b es el parámetro de ancho de banda. En este estudio se tomó $\Omega_c = \Omega_b = 1$ [7,9].

Las señales PIC de nuestra base de datos se analizaron en dos bandas de frecuencia. La banda 1 (B_1), comprendida entre 0.15 Hz y 0.3 Hz, se relaciona con oscilaciones en la presión debidas a la respiración. La banda 2 (B_2) está entre 0.67 Hz y 2.5 Hz y se relaciona con la frecuencia cardíaca [12].

3.2. Medida de la irregularidad empleando la divergencia de Jensen

La irregularidad de la señal PIC a lo largo de los tests de infusión ha sido previamente analizada empleando medidas de entropía calculadas a partir de la TW [9]. En este caso, la medida clásica de entropía de Shannon se denomina entropía *wavelet*, WE [9].

Aunque las medidas de entropía ayudan a cuantificar el desorden de un sistema, no son suficientes para describir completamente la estructura subyacente [13]. En este sentido, la teoría de la información introduce el concepto

de desequilibrio [13]. Concretamente, el desequilibrio cuantifica la distancia entre una función de densidad de probabilidad (PDF), P , y la PDF que representa el equilibrio P_e [13,14]:

$$Q[P] = Q_0 \cdot D[P, P_e], \quad (2)$$

donde $D[X]$ representa una distancia y Q_0 es una constante de normalización. Aunque existen múltiples medidas de distancia, el uso de la divergencia es una alternativa a las mismas [14]. En este estudio se ha empleado la divergencia de Jensen, DJ , expresada en términos de la WE como [14]:

$$DJ[P_1, P_2] = WE\left[\frac{P_1+P_2}{2}\right] - WE\left[\frac{P_1}{2}\right] - WE\left[\frac{P_2}{2}\right]. \quad (3)$$

Esta métrica cuantifica la diferencia entre dos PDFs, P_1 y P_2 . Para que represente una medida de desequilibrio, es necesario reemplazar P_1 por la PDF considerada y P_2 por la PDF que representa el equilibrio, P_e .

En nuestro caso, P_e se correspondía con una PDF uniforme. Asimismo, la PDF que representaba a nuestro sistema se identificó con el escalograma *wavelet* normalizado, calculado a partir de $W(\tau, s)$ como [9]:

$$W_n(\tau, s) = \frac{|W(\tau, s)|^2}{\sum_s |W(\tau, s)|^2}, \tau = 1, \dots, N_T, s \in S_{B_i} (i = 1, 2). \quad (4)$$

Por lo tanto, DJ se calculó empleando (3) y sustituyendo P_1 por $W_n(\tau, s)$ y P_2 por una PDF uniforme [13]. Esta definición de DJ puede considerarse como una medida de irregularidad en términos de la distancia entre la PDF que representa a la señal PIC y una PDF uniforme [13].

Posteriormente, se calcularon la media ($\langle DJ \rangle$) y la desviación típica ($SD[DJ]$) de la serie temporal formada por la evolución de DJ en las escalas correspondientes a B_1 y B_2 . $\langle DJ \rangle$ resume la irregularidad media a lo largo del tiempo. $SD[DJ]$ describe la variabilidad de DJ alrededor de la media. Se obtuvo el promedio de $\langle DJ_{B_i} \rangle$ y $SD[DJ_{B_i}]$ en cada una de las cuatro épocas libres de artefactos del test de infusión y para cada banda B_i ($i=1,2$). Se denota con $\langle DJ_{B_i}^{E_j} \rangle$ al valor medio de DJ en la época E_j ($j=0, 1, 2, 3$) y para la banda B_i ($i=1,2$). De forma similar, se denota con $SD[DJ_{B_i}^{E_j}]$ al valor de $SD[DJ]$ en la época E_j ($j=0, 1, 2, 3$) y para la banda B_i ($i=1,2$).

3.3. Análisis estadístico

Inicialmente, se llevó a cabo un análisis exploratorio de los datos. Se emplearon el test de Kolmogorov–Smirnov con corrección de Lilliefors y el test de Shapiro–Wilk para analizar la normalidad de $\langle DJ_{B_i} \rangle$ y $SD[DJ_{B_i}]$ ($i=1,2$) en las cuatro épocas libres de artefactos. Las variables no cumplían los requisitos de normalidad. Por lo tanto, se empleó el test no paramétrico de Friedman para determinar si existían interacciones significativas ($\alpha=0.01$) entre las épocas del test de infusión [15]. Posteriormente, se realizó un análisis *post hoc* de las interacciones significativas empleando el test de Wilcoxon de los rangos con signo, con corrección de Bonferroni para tener en cuenta el problema de comparaciones múltiples ($\alpha=0.01/6=1.7 \times 10^{-3}$) [15].

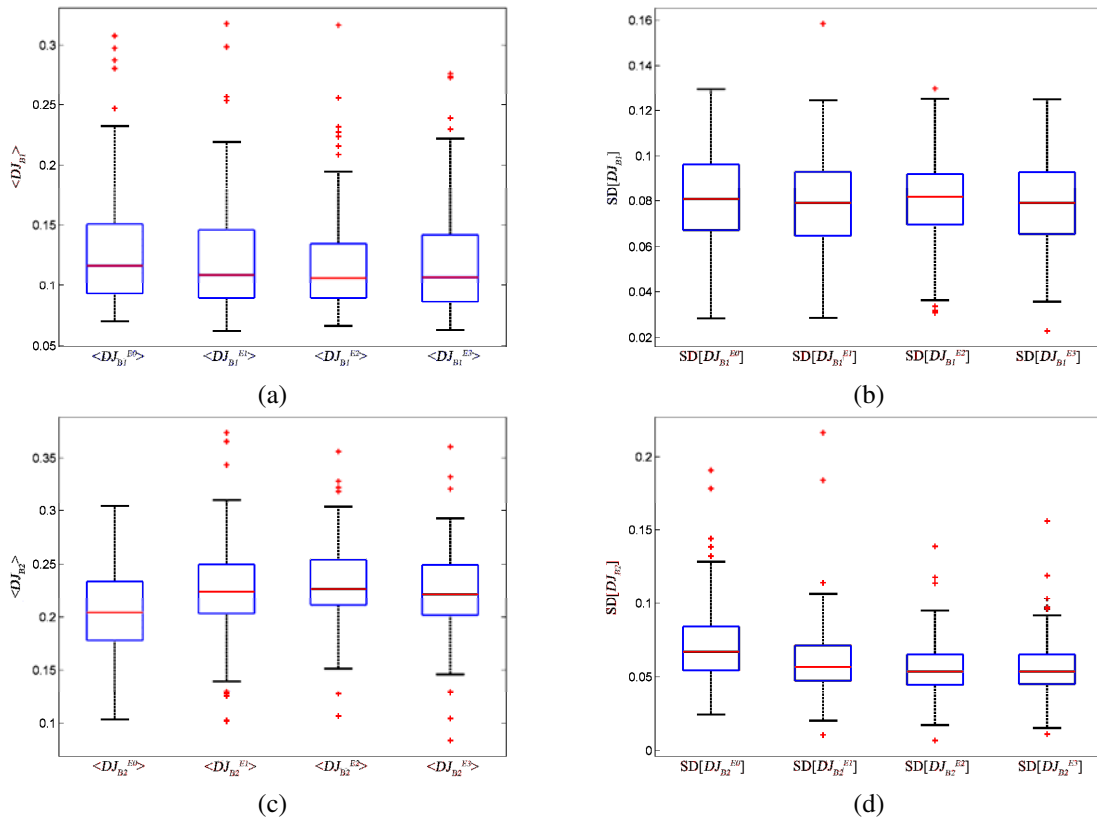


Figura 1. Boxplots que muestran la distribución de los cuatro parámetros en las épocas libres de artefactos. (a) $\langle DJ_{B_1} \rangle$, (b) $SD[DJ_{B_1}]$, (c) $\langle DJ_{B_2} \rangle$, (d) $SD[DJ_{B_2}]$

4. Resultados

Se calculó la TW para las señales de nuestra base de datos. A partir de esta representación tiempo-escala, se calculó la evolución temporal de la DJ , para las bandas B_1 y B_2 . Finalmente, se calcularon $\langle DJ_{B_i}^{E_0} \rangle$, $\langle DJ_{B_i}^{E_1} \rangle$, $\langle DJ_{B_i}^{E_2} \rangle$, $\langle DJ_{B_i}^{E_3} \rangle$, $SD[DJ_{B_i}^{E_0}]$, $SD[DJ_{B_i}^{E_1}]$, $SD[DJ_{B_i}^{E_2}]$ y $SD[DJ_{B_i}^{E_3}]$ ($i=1,2$) en las cuatro épocas libres de artefactos.

En la Figura 1 se muestra la evolución de estos parámetros. Como se observa en la Figura 1a, los valores más altos de $\langle DJ_{B_1} \rangle$ se obtuvieron en la fase basal, después disminuyeron hasta alcanzar el mínimo en la fase de meseta y, finalmente, ascendieron ligeramente en la fase de recuperación. En el caso de $SD[DJ_{B_1}]$, los valores fueron similares en todas las etapas (Figura 1b). Para $\langle DJ_{B_2} \rangle$, como se muestra en la Figura 1c, los valores mínimos se obtuvieron en la fase basal, a continuación se incrementaron hasta alcanzar el máximo valor en la fase de meseta y disminuyeron levemente en la fase de recuperación. La evolución de $SD[DJ_{B_2}]$ sigue la tendencia contraria (Figura 1d).

El test de Friedman, que permite analizar las relaciones

globales en los datos, reveló interacciones significativas en los valores de $\langle DJ_{B_1} \rangle$ ($\chi^2(3)=18.35, p=3.72 \times 10^{-4} < 0.01$), $\langle DJ_{B_2} \rangle$ ($\chi^2(3)=59.00, p=2.5 \times 10^{-13} < 0.01$) y $SD[DJ_{B_2}]$ ($\chi^2(3)=119.52, p=3.4 \times 10^{-26} < 0.01$). Para analizar estas interacciones por parejas, se realizaron análisis *post hoc* empleando el test de Wilcoxon de los rangos con signo. Estos resultados se recogen en la Tabla 1, donde se han resaltado los resultados estadísticamente significativos.

5. Discusión y conclusiones

En este estudio se analizaron los cambios producidos en la DJ en dos bandas de interés durante tests de infusión realizados a pacientes con hidrocefalia. Los valores de $\langle DJ \rangle$ y $SD[DJ]$ se calcularon en dos bandas de frecuencia de interés y para las cuatro épocas libres de artefactos asociadas a las fases del test.

Nuestros resultados no revelaron diferencias significativas entre fases del test de infusión en la banda B_1 empleando $\langle DJ_{B_1} \rangle$ o $SD[DJ_{B_1}]$. Sin embargo, los resultados recogidos en la Tabla 1 indican que sí se encontraron diferencias significativas entre la fase basal y el resto de fases empleando tanto $\langle DJ_{B_2} \rangle$ como $SD[DJ_{B_2}]$. Asimismo, se

Parámetro	E0 vs. E1		E0 vs. E2		E0 vs. E3		E1 vs. E2		E1 vs. E3		E2 vs. E3	
	Z	p	Z	p	Z	p	Z	p	Z	p	Z	p
$\langle DJ_{B_1} \rangle$	-1.76	0.09	-3.12	$1.80 \cdot 10^{-3}$	-2.43	0.02	-1.74	0.08	-2.28	0.02	-0.06	0.95
$\langle DJ_{B_2} \rangle$	-6.01	$1.86 \cdot 10^{-9}$	-6.38	$1.83 \cdot 10^{-10}$	-5.63	$1.84 \cdot 10^{-8}$	-2.41	0.02	-0.73	0.46	-3.14	$1.70 \cdot 10^{-3}$
$SD[DJ_{B_2}]$	-6.70	$2.04 \cdot 10^{-11}$	-7.42	$1.17 \cdot 10^{-13}$	-7.42	$1.14 \cdot 10^{-13}$	-5.68	$1.34 \cdot 10^{-8}$	-4.06	$4.88 \cdot 10^{-5}$	-1.79	0.07

Tabla 1. Estadístico Z y p-valores asociados al test de Wilcoxon. Los valores estadísticamente significativos ($p < 1.7 \times 10^{-3}$) se han señalado en negrita.

encontraron también diferencias entre los pares E_1 vs. E_2 y E_1 vs. E_3 en el caso de $SD[DJ_{B_2}]$. Es especialmente reseñable que $\langle DJ_{B_2}^{E_2} \rangle$, es significativamente mayor que $\langle DJ_{B_2}^{E_0} \rangle$. Esto indica que, en B_2 , la hipertensión intracraneal producida por el test de infusión provoca una pérdida de irregularidad en fase de meseta con respecto a la fase basal. En estudios previos se ha observado una tendencia similar en la banda B_2 empleando medidas de entropía [9]. Por otra parte, es relevante señalar que nuestros resultados muestran un decremento significativo en $SD[DJ_{B_2}^{E_2}]$ con respecto a $SD[DJ_{B_2}^{E_0}]$. Este resultado indica que existe una variabilidad significativamente menor en el contenido espectral de la señal PIC en E_2 que en E_0 .

Esta disminución de irregularidad y variabilidad en E_2 con respecto a E_0 podría estar asociada con factores como la *compliance* cerebral [9]. Este parámetro se define como el cambio en el volumen intracraneal asociado a un cambio de presión y parece ser menor en pacientes con hidrocefalia [16]. La hipertensión inducida por el test de infusión, así como la reducida *compliance* en la hidrocefalia, puede provocar modificaciones en la forma de la señal PIC concordantes con nuestros resultados. Asimismo, nuestros resultados se pueden relacionar con un efecto Cushing inducido por el test de infusión [17]. Este efecto produce cambios en la presión arterial y la variabilidad del ritmo cardíaco que pueden afectar a la irregularidad y variabilidad de la onda.

Como limitación del estudio, cabe señalar que se estudiaron señales PIC de pacientes con hidrocefalia de diferente etiología. Puesto que el objetivo del estudio fue determinar si la DJ podría ser una medida de interés, la heterogeneidad de la población bajo estudio no debería ser una limitación importante. No obstante, sería deseable estudiar un conjunto más numeroso de señales PIC.

Como conclusión cabe señalar que los resultados de este estudio muestran que los estudios de infusión producen cambios en el espectro de las señales PIC en la banda comprendida entre 0.67 Hz y 2.5 Hz, asociada con la componente cardíaca de la señal PIC. Estos cambios sugieren una pérdida de irregularidad y variabilidad en la fase de meseta con respecto a la fase basal. En el futuro se tratará de estudiar otros parámetros espectrales y un mayor rango de frecuencias para obtener información complementaria que permita caracterizar de forma más exhaustiva la dinámica del LCR en la hidrocefalia.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto TEC2014-53196-R del Ministerio de Economía y Competitividad y FEDER y por el proyecto VA037U16 de la Consejería de Educación (Junta de Castilla y León). A. Bachiller cuenta con una beca FPI-UVA de la Universidad de Valladolid.

Referencias

- [1] Santamarta D, Hornero R, Abásolo D, Martínez-Madrigal M, Fernández J, García-Cosamalón J. Complexity analysis of the cerebrospinal fluid pulse waveform during infusion studies. *Childs Nervous System*, vol 26, 2010, pp 1683–9.
- [2] Katzman R, Hussey F. A simple constant-infusion manometric test for measurement of CSF absorption I: rationale and method. *Neurology*, vol 20, 1970, pp 534–44.
- [3] Momjian S, Czosnyka Z, Czosnyka M, Pickard JD. Link between vasogenic waves of intracranial pressure and cerebrospinal fluid outflow resistance in normal pressure hydrocephalus. *British Journal of Neurosurgery*, vol 18, no 1, 2004, pp 56–61.
- [4] Hornero R, Aboy M, Abásolo D, McNames J, Goldstein B. Interpretation of approximate entropy: analysis of intracranial pressure approximate entropy during acute intracranial hypertension. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol 52, no 10, 2005, pp 1671–80.
- [5] Lemaire JJ, Boire JY, Chazal J, Irthum B. A computer software for frequential analysis of slow intracranial pressure waves. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol 42, no 1, 1994, pp 1–14.
- [6] Holm S, Eide PK. The frequency domain versus time domain methods for processing of intracranial pressure (ICP) signals. *Medical Engineering & Physics*, vol 30, no 2, 2008, pp 164–70.
- [7] Latka M, Kolodziej W, Turalska M, Latka D, Zub W, West BJ. Wavelet assessment of cerebral compensatory reserve and cerebrovascular reactivity. *Physiological Measurement*, vol 28, no 5, 2007, pp 465–79.
- [8] Xu P, Hu X, Yao D. Improved wavelet entropy calculation with window functions and its preliminary application to study intracranial pressure. *Computers in Biology and Medicine*, vol 43, no 5, 2013, pp 425–33.
- [9] García M, Poza J, Bachiller A, Santamarta R, Hornero R. Effect of infusion tests on the dynamical properties of intracranial pressure in hydrocephalus. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol 131, 2016, pp 325–35.
- [10] Kijewski T, Kareem A. Wavelet transforms for system identification in civil engineering. *Computer-aided Civil and Infrastructure Engineering*, vol 18, 2003, pp 339–55.
- [11] Rioul O, Vetterli M. Wavelets and signal processing. *IEEE Signal Processing Magazine*, vol 8, no 4, 1991, pp 14–38.
- [12] Haubrich C, Diehl RR, Kasprovicz M, Diedler J, Sorrentino E, Smielewski P, Czosnyka M. Traumatic brain injury: increasing ICP attenuates respiratory modulations of cerebral blood flow velocity. *Medical Engineering and Physics*, vol 37, 2015, pp 175–9.
- [13] Poza J, Gómez C, García M, Bachiller A, Fernández A, Hornero R. Analysis of spontaneous MEG activity in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease using Jensen's divergence. *Proceedings of the IEEE EMBS Conference*, Chicago, 2014, pp 1501–4.
- [14] Kowalski AM, Martín MT, Plastino A, Rosso OA, Casas M. Distances in probability space and the statistical complexity setup. *Entropy*, vol. 13, 2011, pp1055–75.
- [15] Jobson JD. Applied Multivariate Data Analysis. Volume II: Categorical and Multivariate Methods. Springer, 1991.
- [16] Bateman GA. Vascular compliance in normal pressure hydrocephalus. *American Journal of Neuroradiology*, vol 21, 2000, pp 1574–85.
- [17] Schmidt EA, Czosnyka Z, Momjian S, Czosnyka M, Bech RA, Pickard JD. Intracranial baroreflex yielding an early Cushing response in humans. *Acta Neurochirurgica Supplement*, vol 95, 2005, pp 253–6.

A first approach to Arrhythmogenic Cardiomyopathy detection through ECG and Hidden Markov Models

S. Jiménez-Serrano¹, Jorge. Sanz Sánchez², CD. Martínez Hinarejos³, B. Igual Muñoz⁴, J. Millet Roig¹, E. Zorio Grima², F Castells¹

¹ Instituto ITACA, Universitat Politècnica de València, València, Spain (sanjiser@upv.es)

² Unidad de Valoración del Riesgo de Muerte Súbita Familiar, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, València, Spain

³ Dpto. Sistemas Informáticos y Computación, Universitat Politècnica de València, València, Spain

⁴ Centro Médico-Quirúrgico ERESA, Valencia, España

Abstract

Arrhythmogenic Cardiomyopathy (ACM) is a heritable cardiac disease causing sudden cardiac death in young people. Its clinical diagnosis includes major and minor criteria based on alterations of the electrocardiogram (ECG). The aim of this study is to evaluate Hidden Markov Models (HMM) in order to assess its possible potential of classification among subjects affected by ACM and those relatives who do not suffer the disease through 12-lead ECG recordings.

Database consists of 12-lead ECG recordings from 32 patients diagnosed with ACM, and 37 relatives of those affected, but without gene mutation. Using the HTK toolkit and a hold-out strategy in order to train and evaluate a set of HMM models, we performed a grid search through the number of states and Gaussians across these HMM models.

Results show that two different HMM models achieved the best balance between sensibility and specificity. The first one needed 35 states and 2 Gaussians and its performance was 0.7 and 0.8 in sensibility and specificity respectively. The second one achieved a sensibility and specificity values of 0.8 and 0.7 respectively with 50 states and 4 Gaussians.

The results of this study show that HMM models can achieve an acceptable level of sensibility and specificity in the classification among ECG registers between those affected by ACM and the control group. All the above suggest that this approach could help to detect the disease in a non-invasive way, especially within the context of family screening, improving sensitivity in detection by ECG.

1. Introduction

Arrhythmogenic Cardiomyopathy (ACM) is a heritable cardiac disease that causes fibro-fatty infiltration in the myocardial tissue [1], producing electrical conduction disturbances that can trigger ventricular arrhythmias. ACM is one of the leading causes of sudden death in young people from heart failure with dominant transmission. The chances of getting the disease increases dramatically among relatives of those affected [2, 3].

The clinical diagnosis of ACM is based on the Task Force criteria reviewed in 2010 [4]. These criteria include observations on the surface electrocardiogram (ECG), Magnetic Resonance Imaging (MRI), echocardiography, prevalence among relatives and histological analysis.

Regarding these diagnostic criteria, the standard ECG is the simplest and most commonly used technique for detecting cardiac arrhythmias. Certain ECG

morphological changes have been identified as indicative of possible ACM. Among others, T-wave inversion in the right precordial leads (V1-V3), parameters related to the duration, amplitude, and fragmentation of the QRS complex along with epsilon wave appearance in different derivations have been described [4-6]. However, other Pattern Recognition (PR) techniques such as Hidden Markov Models (HMM) that have proven clinical diagnostic efficacy in other diseases [7, 8] have not been tested yet in ACM.

The aim of this study is to evaluate HMM models in order to assess its possible potential of classification among subjects affected by ACM and those relatives who do not suffer the disease through 12-lead ECG recordings. The initial hypothesis is that HMM models can achieve an acceptable level of sensibility and specificity in the classification among ECG registers between these two groups. This paper presents a set of HMM models trained and tested using the HTK toolkit [9] and 12-lead ECG registers in order to evaluate their accuracy, sensibility and specificity.

2. Materials

As database for this study we included records from 32 patients previously diagnosed with ACM (23 with preferential involvement of the left ventricle, and 9 with biventricular involvement). Furthermore, as control group we used records from 37 subjects who had undergone diagnostic tests for ACM due to having relatives affected by the disease, but with negative results in their own diagnosis without any finding of ACM gene mutation. Each of these registers consists of ECG signals of 12 standard leads, lasting 10 to 15 seconds with sampling frequency of 500 Hz, acquired through a Philips PageWriter Touch device.

3. Methods

3.1. Signal preprocessing

First, we applied a 50Hz notch filter in order to remove the power line interference. Next, we applied a band-pass filter between 1Hz and 45Hz in order to reduce high frequency noise and baseline wandering. Finally, we removed the first and last 0.5 seconds of signal with the aim of avoiding the transient filtering stage.

3.2. Dataset definition

For each preprocessed 12-lead ECG recording we calculated the first and second derivatives. This gave us a total of 36 time series taking into account the original leads.

Besides, for each preprocessed 12-lead ECG recording we calculated the Vectorcardiogram (VCG) through the *Dower's Inverse Transform* [10]. Thus, we obtained a three-dimensional representation of the cardiac electrical activity. The VCG added 3 time series to our dataset.

Finally, a Principal Component Analysis (PCA) was performed for each preprocessed 12-lead recording. PCA is a multivariate statistical technique that allows dimensionality reduction of large correlated data sets into another data set of lower dimensions. Each of these new dimensions is called "principal components" and can represent better the original data variance [11]. Since PCA transforms the ECG to virtual parameters that are mutually independent (i.e. orthogonal), the 3 first principal components contain all the information representing the vectorial concept of a single electrical dipole. We added these 3 first dipolar components as time series to our dataset since normally it contains most of the information contained at the ECG [12].

Summing up, from each ECG recording we created a new one composed by 42 time series (12-leads and its first and second derivatives, VCG and the 3 first principal components from PCA).

3.3. Training and Test dataset split

The life cycle of a Pattern Recognition problem could be divided into two main steps: training and recognition. During the training step a set of data called "training set" is used to build the PR model, HMM in our case. Second step uses the remaining samples as "test set" to afford the performance of the model during the recognition stage. This strategy, also called hold-out evaluation, was used during this work.

Table 1 shows the number of samples assigned to each of the two splits from our original dataset, where 71% of the records were used for training and 29% for test. This division was performed randomly once, and used during the training and test steps for each HMM during this work. The original prevalence in our database was 46.4%. However, the division proposed sets a prevalence of 45% in training set and 50% in the test set.

ECG Records	ACM	Control	Total
<i>Training Set</i>	22	27	49 (71%)
<i>Test Set</i>	10	10	20 (29 %)
<i>Total</i>	32	37	69

Table 1. Number of ECG records assigned to training and test sets according to belonging to ACM or Control groups.

3.4. Training HMM models with HTK

HMM theory has proposed solutions to classification problems in time series that are widely explained in the literature, being the Rabiner tutorial one of the most well-known [13]. First, the iterative process of the Baum Welch algorithm is used in order to estimate the HMM parameters during the training stage. Finally, Viterbi algorithm is proposed as a decoding solution to find the most probable future state of the system based on its current state, and thus, to be used during the recognition stage [14].

The HMM parameters are the following: number of hidden states (#states), state transition probability distribution, observation probability distribution, and initial state distribution. As a mixture of Gaussians could also be used in HMM models, the number of Gaussians (#gaussians) will be also considered a parameter of the model during this work.

HTK (Hidden Markov Model Toolkit) [9] is a set of software tools for building and manipulating HMMs using training observations to finally decode unknown observations. Besides, HTK supports HMMs using continuous density mixture Gaussians and provides tools for HMM training, testing and results analysis. Although it is mainly intended for speech recognition it also has been used in a wide number of different research applications.

We carried out a grid search in HMM models during this work combining the number of states (#states) and number of Gaussians (#gaussians). The search in number of states was performed in the range (20, 60) with steps of 5, whereas that number of Gaussians search was carried out in the range (1, 16) with steps of powers of 2. Thus, we trained a set of HMM models corresponding to (#states, #gaussians) pairs.

For each of these pairs, through HTK, we trained a model that provides us the probability that an ECG recording 'x' has been generated from someone belonging to the ACM group, i.e. $p(x | ACM)$. The same process is performed creating an HMM model that provides the probability for the same recording 'x' of belonging to someone in the Control group, i.e. $p(x | CONTROL)$.

Finally, using HTK we created a system that gives the most probable class (ACM or CONTROL) for each preprocessed ECG recording during the recognition stage. This recognition process was used for each HMM model trained during the grid search described above.

3.5. Evaluation criteria for HMM models

The goal of this work was to obtain predictive models with good sensitivity and specificity balance. An estimation commonly used to assess the relation between sensitivity and specificity is the geometric mean of the two accuracies, $G = \sqrt{Sensitivity \cdot Specificity}$, defined on the interval (0, 1). One of the advantages of G is that it provides an easy and understandable measure of accuracy not compromised by illness prevalence.

As mentioned before, each HMM model trained with HTK during this work corresponds to a particular pair (#states, #gaussians). For each of these combinations we calculated the Sensitivity, Specificity and G values using the test set. Besides, the accuracy with its confidence interval (CI) at 5% of significance was also calculated. All these measures were provided in order to assess the performance of each classification model. To consider that a HMM model has a good performance we took a threshold of 0.7 in G or accuracy values.

4. Results

Table 1 shows the results for the best models obtained during the validation process of this work on the test dataset, using 0.7 as threshold in G or accuracy values.

Two different HMM models achieved the best balance between sensibility and specificity with a G value of 0.75. The first one needed 35 states and 2 Gaussians and its performance was 0.7 and 0.8 in sensibility and specificity respectively. The second one achieved a sensibility and specificity values of 0.8 and 0.7 respectively with 50 states and 4 Gaussians.

The third best HMM model achieved a G value of 0.73 with a high level of sensibility (0.9) but a low level of specificity (0.6). The same situation of unbalanced sensibility and specificity happens in the fourth best model obtained with a G value of 0.71.

All the HMM models mentioned above presented an accuracy of 0.75. The last two models surpassing, or equalling the performance threshold of 0.7 in G or accuracy presented an accuracy of 0.7, and a more balanced level of sensibility and specificity, but with lower levels of G than the previous models.

Figures 1 and 2 show the results of G and accuracy achieved during the whole grid search performed in HMM models in pseudocolor plots according to the number of states and Gaussians used. The more homogeneous best results appear between 45 and 50 states and 4 to 16 Gaussians as Table 1 confirms. Nevertheless, there is no a clear pattern close to models with good performance. On the other hand, it appears

zones where G values tend to zero, such as HMM models with 40 to 60 states and 1 Gaussian.

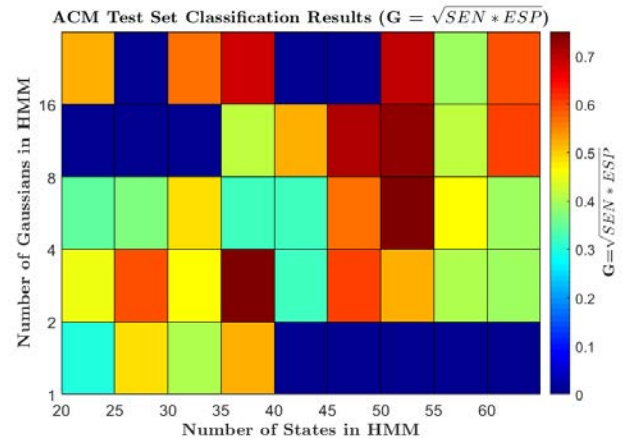


Figure 1. Grid search results on the Test Dataset for G values. X axis corresponds to the number of states in the HMM (20, 25, ..., 60). Y axis corresponds to the number of Gaussians contained at the HMM (1, 2, 4, 8, 16). Color indicates the value of G obtained for each (x,y) point.

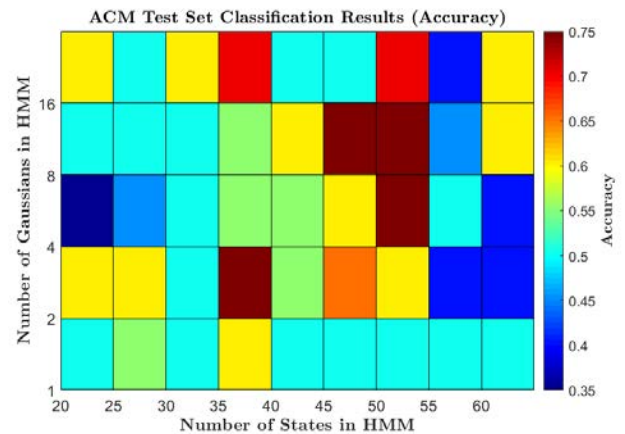


Figure 2. Grid search results on the Test Dataset for Accuracy values. X axis corresponds to the number of states in the HMM (20, 25, ..., 60). Y axis corresponds to the number of Gaussians contained at the HMM (1, 2, 4, 8, 16). Color indicates the Accuracy obtained for each (x,y) point.

Number of States in HMM	Number of Gaussians in HMM	Sensibility	Specificity	G	Accuracy (95% CI)
35	2	0.7	0.8	0.75	0.75 (0.56-0.94)
50	4	0.8	0.7	0.75	0.75 (0.56-0.94)
50	8	0.9	0.6	0.73	0.75 (0.56-0.94)
45	8	1	0.5	0.71	0.75 (0.56-0.94)
50	16	0.7	0.7	0.7	0.70 (0.50-0.90)
35	16	0.6	0.8	0.69	0.70 (0.50-0.90)

Table 2. Comparison of the classification results for the best models obtained during this work on the Test Dataset. Threshold is set in 0.7 for G or Accuracy values. Accuracy is given with its confidence interval (CI) at 5% of significance. $G = \sqrt{\text{Sensibility} * \text{Specificity}}$

5. Discussion

The main finding of this study is that HMM models could assist to ACM detection. This is especially relevant given that the control group studied during this work is composed by relatives of subjects affected by ACM. Hence the proposed HMM models could be used in family medical screenings.

As expected, this study shows acceptable levels of sensibility and specificity using HMM models during the classification among ECG registers between the group of patients affected by ACM and the control group, being 0.75 the best level of G and accuracy achieved. This has been empirically demonstrated during the grid search in the parameters of HMM models performed. However, it would be advisable to use a combination of HMM models to improve these results. Thus it could increase sensitivity in the detection of ACM by ECG.

Despite the results, this study has some limitations that should be considered for future works. First, the database of ECG records should be enlarged by including new patients and controls in order to gain statistical significance. Furthermore, during this work we used 42 different time series during the classification extracted from the ECG, but a reduction of the data dimensionality could improve the results achieved. Finally, although an acceptable level of balance between sensibility and specificity was achieved, the proposed methodology is not able to classify with no errors subjects belonging to one group or another. Therefore, further and deeper research to improve these results is still needed.

6. Conclusion

In this paper we have proposed a set of HMM models in order to assess its possible potential of classification among subjects affected by ACM and those relatives who do not suffer the disease through 12-lead ECG recordings. The results of this study show that HMM models can achieve an acceptable level of sensibility and specificity in the classification among ECG registers between these two groups. This approach could help to detect the disease in a non-invasive way, especially within the context of family screening, improving sensitivity in detection by ECG. However, the database of ECG records should be enlarged in order to gain performance in the classification results of the HMM models.

Acknowledgements

This work was partially supported by Instituto de Salud Carlos III-FEDER “Una manera de hacer Europa” (PI14/014077 and RD12/0042/0029), National Program of the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (DPI2015-70821-R), PROMETEOII/2014/037, ERESA 2013 grant and IIS La Fe-UPV 2014 grant.

References

- [1] Marcus F et al. Right ventricular dysplasia: a report of 24 adult cases. *Circulation*, vol 65, sup 2, 1982, pp 384-98 (ISSN: 0009-7322).
- [2] Nava A et al. Familial occurrence of right ventricular dysplasia: a study involving nine families. *Journal of the*

- American College of Cardiology*, vol 12, sup 5, 1988, pp 1222-8 (ISSN: 0735-1097).
- [3] Daliendo L et al. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in young versus adult patients: similarities and differences. *Journal of the American College of Cardiology*, vol 25, sup 3, 1995, pp 655-64 (ISSN: 0735-1097).
- [4] Marcus FI, et al. Diagnosis of Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy/Dysplasia. *Circulation*, vol 121, sup 3, 2010, pp 1533-41 (ISSN: 0009-7322).
- [5] Quarta G, Elliot PM. Criteria for Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy. *Revista Española de Cardiología (English Version)*, vol 65, sup 07, 2012, pp 599-605 (ISSN: 1885-5857).
- [6] Pilichou K, et al. Arrhythmogenic cardiomyopathy. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, vol 11, sup 1, 2016; pp 1-17 (ISSN: 1750-1172)
- [7] Liang W, et al. A Novel Approach to ECG Classification Based upon Two-Layered HMMs in Body Sensor Networks. *Sensors*, vol 14, sup 4, 2014, pp 5994-6011 (ISSN: 1424-8220).
- [8] Chang P, et al. Myocardial infarction classification with multi-lead ECG using hidden Markov models and Gaussian mixture models. *Applied Soft Computing Journal*, vol 12, sup 10, 2012, pp 3165-75 (ISSN: 1568-4946).
- [9] Young S, et al. *The HTK Book*. Cambridge University Press, 2006.
- [10] Edenbrandt L, Pahlm O. Vectorcardiogram synthesized from a 12-lead ECG: Superiority of the inverse Dower matrix. *Journal of Electrocardiology*, vol 21, sup 4, 1988, pp 361-7 (ISSN: 0022-0736).
- [11] Jolliffe IT. *Principal Component Analysis*. Springer, 2002 (ISBN: 978-0-387-22440-4).
- [12] Castells F, et al. Principal Component Analysis in ECG Signal Processing. *EURASIP Journal on Advances in Signal Processing*, vol 1, sup 1, 2007; pp 98-119 (ISSN: 1110-8657).
- [13] L. Rabiner. A tutorial on hidden Markov models and selected applications in speech recognition. *Proceedings of the IEEE*, vol 77, sup 2, 1989, pp 257-286 (ISSN: 0018-9219).
- [14] Abou-Abbas L, et al. Automatic detection of the expiratory and inspiratory phases in new born cry signals. *Electrical Biomedical Signal Processing and Control*, vol 19, sup 1, 2015, pp 35-43 (ISSN: 1746-8094).

Método basado en la correlación para la medida de duración de los potenciales de acción de unidad motora

A. Malanda Trigueros¹, I. Rodríguez Carreño², L. Gila Usero³, I. García de Gurtubay Gálligo³, J. Navallas Irujo¹, J. Rodríguez Falces¹

¹ Departamento de Ingeniería Eléctrica y Electrónica, Universidad Pública de Navarra, Pamplona, España, malanda@unavarra.es

¹ Departamento de Economía, Universidad de Navarra, Pamplona, España, irodriguez@unav.es

² Servicio de Neurofisiología, Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona, España, luis.gila.useros@cfnavarra.es

Resumen

Se presenta un método automático para medir la duración de los potenciales de acción de unidad motora (PAUMs). Este método se basa en la correlación y trata de determinar qué partes se repiten en los diferentes potenciales de un tren de PAUMs. Los resultados del nuevo método se compararon con los obtenidos por otros dos métodos reconocidos de determinación de la duración del PAUM. Para ello se analizaron 313 registros de electromiografía (EMG) de músculos normales y de tres grupos patológicos durante contracciones voluntarias débiles. Se estableció primero un "gold standard" para las posiciones de inicio y fin de cada potencial analizado, utilizando varias medidas manuales efectuadas por expertos electromiografistas. Se computaron varias figuras estadísticas, las cuales muestran que el nuevo método proporciona marcaciones de duración más próximas al "gold standard" y con menores errores aberrantes que las obtenidas con los otros dos métodos para los cuatro grupos de PAUMs estudiados.

1. Introducción

La unidad motora (UM) es la unidad funcional en la activación voluntaria del músculo y comprende una motoneurona y las fibras musculares que ésta inerva. Una orden de contracción muscular, procedente en último término del cerebro, es enviada mediante un tren de potenciales de acción a través de la motoneurona de una UM. Al llegar a las fibras musculares de esta UM, se generan nuevos potenciales de acción que viajan por estas fibras de manera sincronizada hacia los tendones, produciendo la contracción de las mismas. Al potencial observado por un electrodo dispuesto cerca de la UM se le llama potencial de acción de unidad motora (PAUM) y su forma y dimensiones están relacionadas con la estructura y funcionalidad de la UM. El análisis del PAUM se aplica al diagnóstico clínico en la práctica neurofisiológica rutinaria.

La duración del PAUM está relacionada con el número de fibras musculares de la UM, con la velocidad de conducción de éstas y con la dispersión temporal de sus tiempos de activación [1]. Además varios de los parámetros más importantes para caracterizar el PAUM se miden dentro de los límites marcados por la duración [2].

El inicio del PAUM es generalmente abrupto, debido a la despolarización de la fibra muscular. Sin embargo, la fase

final del potencial vuelve asintóticamente a la línea de base sin un punto definido de terminación [3]. Las señales rutinarias de EMG casi siempre muestran fluctuaciones lentas de la línea de base (LB), ruido de diverso tipo y potenciales superpuestos de varias UMs, de tal forma que resulta muy difícil distinguir la extensión de la parte final del potencial. Por ello la medida manual de la duración del PAUM es un proceso complicado y arbitrario [4], reportándose bajos niveles de confianza y repetitividad [2, 5-6]. En la literatura han aparecido varios algoritmos automáticos diseñados para superar las limitaciones de la evaluación subjetiva de la duración del PAUM [2,7], algunos de los cuales han sido implementados en equipos comerciales de EMG. Sin embargo, como apuntan diversos autores [8-9], estos algoritmos requieren una supervisión visual continua y un reajuste frecuente de las marcaciones.

Aparte de los enfoques anteriores (convencionales), más recientemente se presentó un método de medición automática de duración basado en la transformada wavelet [10]. En un estudio comparativo este algoritmo de duración superó los resultados de los métodos convencionales en señales normales y patológicas [11]. Sin embargo, en trabajos más recientes todavía se han seguido usando los métodos convencionales para medir la duración del PAUM [12], incluso aplicando correcciones manuales [13].

Cuando una UM está activa genera trenes de potenciales "quasi-periódicos". En esta situación si las condiciones fisiológicas y de registro permanecen estables, los potenciales registrados incluirán una componente determinística, que puede considerarse básicamente inalterada en el tiempo, y una componente estocástica, que incluirá ruido y artefactos de diferente origen, por ejemplo, potenciales biológicos de otras fuentes. Según esto, la correlación entre dos potenciales de un tren de PAUMs será alta. Es más, la correlación entre segmentos correspondientes (por ejemplo, su inicio, su espiga central o su porción final, etc.) de dos potenciales de un tren de PAUMs será asimismo alta.

Por otro lado, la correlación será mucho menor entre partes de la señal en las que no se encuentran formas de onda repetitivas. Siguiendo esta idea, el nuevo método trata de determinar la duración del potencial observando cuál es

la extensión de tiempo en el que existe una correlación alta entre los distintos potenciales del tren de PAUMs.

En este artículo se presenta este nuevo algoritmo y se compara con uno de los métodos convencionales automáticos más reconocidos y con el algoritmo basado en la transformada wavelet antes citado, utilizando para ello señales de músculos normales y patológicos.

2. Material

Se analizaron 313 registros de 5 s de duración de señal EMG tomada durante contracciones voluntarias débiles: 68 señales de 14 músculos deltoides normales, 105 de músculos miopáticos, 27 de músculos neurógenos crónicos, y 72 de músculos neurógenos subagudos. Los tres últimos grupos de señales fueron tomadas de 8 músculos diferentes que exhibían cambios patológicos definidos. Las señales fueron adquiridas en el Servicio de Neurofisiología del Complejo Hospitalario de Navarra con un electromiógrafo Medelec Synergy Mobile (Oxford Instruments Medical, Inc.), usando electrodos de aguja concéntricos (tipo DCN37; diámetro 0.46 mm, área de registro 0.07 mm²; Medtronic). Se usó un filtro paso banda con frecuencias de corte de 3 Hz y 10 kHz, frecuencia de muestreo de 20 kHz y 16 bits por muestra en la conversión A/D. Las señales digitalizadas se almacenaron en el disco duro de un PC para su posterior análisis.

Para extraer los trenes de PAUMs a partir de los registros de EMG se utilizó un método automático de descomposición de PAUMs [14]. Se extrajeron segmentos de 50 ms (ó 100 ms en el caso de los potenciales más largos) de duración, dejando su máximo pico negativo en el 40% de la longitud del segmento adquirido.

A continuación los potenciales de cada tren fueron alineados en el eje temporal por máxima correlación [15] y en el eje de amplitudes por minimización de la distancia euclídea entre los potenciales y el potencial promedio del tren de PAUMs [16].

De cada tren de PAUMs se seleccionaron entre 3 y 10 potenciales bien definidos (sin superposiciones, potenciales secundarios ni amplias fluctuaciones de la LB) y con tiempos de subido menores que 1 ms. Por último, se obtuvo una forma de onda representativa de cada tren de PAUMs utilizando un método de estimación recientemente publicado [17]. Un total de 295 trenes de PAUMs se aceptaron para el análisis: 68 de músculos deltoides normales, 124 de músculos miopáticos, 20 de músculos neurógenos crónicos y 83 de músculos neurógenos subagudos.

Todos los procesos fueron supervisados y la selección final se realizó manualmente para asegurar que sólo fueran aceptados PAUMs sin distorsión.

3. Métodos

3.1. Determinación del “gold standard” de duración

Para sortear la alta variabilidad en la marcación manual de la duración del PAUM, se utilizó un método que permite encontrar una estimación fiable de los instantes de inicio y fin del PAUM (“gold standard”), a partir de varias medidas

efectuadas manualmente. Para cada uno de los PAUMs finalmente extraídos, dos expertos electromiografistas (LGU e IGG) realizaron cada uno tres mediciones de la duración, distanciando al menos dos semanas cada marcación. De las seis posiciones marcadas de inicio y fin, el “gold standard” (GSP) se definió como el punto medio de las tres posiciones más cercanas [18].

3.2. Método basado en la correlación

El método parte de los potenciales del tren previamente alineados en los ejes temporal y de amplitudes. Después de esto, una ventana de análisis de cierta longitud (L_w) se desliza a lo largo de la toda la extensión del potencial (50 ó 100 ms) en saltos de cierta medida temporal (Δh). Podemos llamar x_{ij} al potencial i -ésimo del tren visto a través de la ventana deslizante en su salto j -ésimo (Fig. 1).

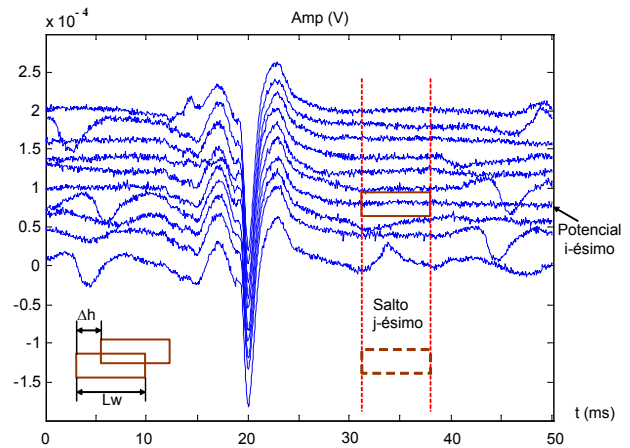


Figura 1. Potenciales de un tren de PAUMs presentados en modo “raster”. Se muestra la ventana deslizante.

En la posición inicial de la ventana se computa el coeficiente de correlación (CC) entre los segmentos de cada par de potenciales del tren, usando la función *corrcoef* de Matlab (Mathworks Inc.) y a continuación se obtiene el promedio de los CC de los diferentes pares de segmentos.

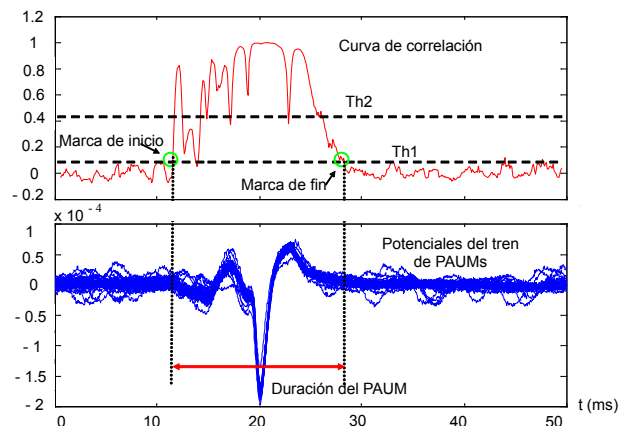


Figura 2. Extracción de las marcaciones de inicio y fin. (Ver texto). (El eje temporal se da en ms. El eje de amplitudes se da en unidades normalizadas en el panel de arriba y en voltios en el panel de abajo).

Esto se repite para los siguientes saltos de la ventana, obteniéndose una curva de correlación de segmentos a lo largo de toda la extensión del potencial (50 ó 100 ms) (Fig. 2). Esta curva generalmente tiene su valor máximo en un instante próximo al pico central del potencial. Alrededor de este pico máximo aparece una especie de meseta, más allá de la cual la curva empieza a caer de forma más o menos abrupta. Para buscar el inicio del potencial, se establece un primer umbral (Th1) y se busca el instante temporal en el que la curva de correlación, al desplazarse hacia la izquierda a partir del pico máximo, cruce hacia abajo el umbral Th1. Este instante será el marcador tentativo de inicio del potencial.

Para hacer que la detección sea más robusta se buscará hacia la izquierda, un segundo pico que supere un segundo umbral (Th2). En caso de encontrarlo, a partir de este pico se repite la búsqueda del punto donde la curva de correlación cruza nuevamente el umbral Th1 hacia abajo. Justo en ese punto de cruce se posicionará el marcador de inicio del PAUM (Fig 2). Para obtener el punto de final del PAUM, se repite toda la operación, pero moviéndonos hacia la derecha a partir del pico máximo del potencial.

En nuestro estudio, para el marcador de inicio del PAUM se establecieron de manera empírica los valores de 0.06 y 0.5 para Th1 y Th2, respectivamente, y 1 y 0.1 ms para Lw y Δh, respectivamente. Para el marcador de fin se establecieron de manera empírica los valores de 0.05 y 0.5 para Th1 y Th2, respectivamente, y 2.5 y 0.25 ms para Lw y Δh, respectivamente. Estos valores se obtuvieron por inspección visual, no por simulaciones sistemáticas.

3.3. Comparación de métodos

El nuevo método basado en correlación (CM) fue comparado con dos métodos automáticos de medición de la duración del PAUM: el método convencional propuesto por Nandedkar (NM) [7], y el método basado en la transformada wavelet (WM) [10].

3.4. Análisis estadístico

Para evaluar la precisión de los métodos en la medida de la duración del PAUM se llevaron a cabo exámenes comparativos en dos aspectos diferentes:

(a) Error cuadrático medio: Para el inicio y final del PAUM se computaron la media y la varianza de las diferencias relativas de las marcaciones obtenidas por los métodos automáticos con respecto al GSP. Este error se estimó a partir de estas medidas según la siguiente expresión:

$$EMSE = mean_{d,start}^2 + var_{d,start} + mean_{d,end}^2 + var_{d,end} \quad (1)$$

donde $mean_{d,start}^2$ y $var_{d,start}$ son, respectivamente, el cuadrado de la media y la varianza de las diferencias entre la marcación del inicio del PAUM de un método con respecto al GSP; y $mean_{d,end}^2$ y $var_{d,end}$ son las medidas equivalentes para la marcación del final.

El parámetro EMSE se calculó para los cuatro grupos de sujetos analizados (sanos y tres patologías) y también se calculó el error cuadrático medio global, ponderando el

EMSE proporcionalmente al número de pacientes por grupo (EMSE_g).

(b) Errores aberrantes: Los casos en los que las diferencias absolutas entre la marcación manual y el GSP son mayores de 5 ms pueden considerarse errores aberrantes. En el estudio se computó el porcentaje de estos errores frente al total de marcaciones efectuadas y se compararon los resultados correspondientes a cada método usando el test Chi-cuadrado.

4. Resultados

4.1. Error cuadrático medio

La Tabla 1 muestra los valores de EMSE de los tres métodos para los cuatro grupos diferentes de PAUMs y el EMSE global. El CM presenta el EMSE más bajo para todos los casos, excepto para el grupo de neurógenos crónicos.

Grupo/Método	NM	WM	CM
Normal	10.4	12.4	3.4
Miopático	15.3	4.2	2.1
Neurógeno crónico	98.5	32.1	33.1
Neurógeno subagudo	19.9	9.5	5.9
Total (EMSE _G)	21.5	8.6	5.0

Tabla 1. Valores de EMSE obtenidos por los métodos automáticos para los distintos grupos de PAUMs y EMSE conjunto (EMSE_G).

4.2. Errores aberrantes

En las Tablas 2 y 3 se muestran los porcentajes de errores aberrantes que aparecen en los distintos métodos para los cuatro grupos de estudio y las marcaciones de inicio y final del PAUM.

Grupo/Método	NM	WM	CM
Normal	0.0	2.9	0.0
Miopático	1.6	0.8	0.0
Neurógeno crónico	6.9*	10.3*	0.0
Neurógeno subagudo	3.6	3.6	1.2

Tabla 2. Porcentaje de errores aberrantes en la marcación del inicio del PAUM obtenidos por los métodos automáticos para los distintos grupos de PAUMs. * = $p < 0.01$ (Test chi-cuadrado).

Grupo/Método	NM	WM	CM
Normal	29.4*	11.8	7.4
Miopático	39.5*	9.7*	3.2
Neurógeno crónico	37.9	27.6	13.8
Neurógeno subagudo	42.2*	9.6	9.6

Tabla 3. Porcentaje de errores aberrantes en la marcación del final del PAUM obtenidos por los métodos automáticos para los distintos grupos de PAUMs. * = $p < 0.01$ (Test chi-cuadrado).

Para ambas marcaciones, el CM presenta el menor porcentaje de estos errores para los cuatro grupos de señales. Para las marcaciones del inicio, se encontraron diferencias significativas entre el CM y los otros dos métodos, solamente para el grupo de PAUMs neurógenos crónicos. Para las marcaciones de final, aparecieron diferencias significativas entre el CM y NM en los grupos normal, miopático y neurógeno subagudo, y entre el CM y el WM, en el grupo miopático.

5. Discusión

La duración del PAUM es un parámetro muy importante en la EMG cuantitativa, pues da información relevante sobre las UMs que generan los PAUMs y también es crítico para la estimación de otros parámetros de la forma de onda del PAUM. En este artículo se ha presentado un procedimiento la marcación automática del PAUM que proporciona marcaciones de duración más precisas, con menor variabilidad y menores errores aberrantes que otros métodos relevantes en la literatura, para PAUMs normales y patológicos. Este hecho, junto con su simplicidad y bajo coste computacional, hace del nuevo procedimiento una herramienta muy valiosa para el análisis cuantitativo de los PAUMs, reduciendo el requerimiento de la intervención manual del electromiografista. Más aún, su implementación en tiempo real en los sistemas comerciales de registro EMG podría reducir los tiempos de exploración y con ello las molestias del paciente.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, a través del Proyecto TEC2014-58947-R.

Referencias

- [1] Stalberg E, Nandedkar S, Sanders DB, Falck B. Quantitative motor unit potential analysis. *J Clin Neurophysiol*, 1996;13:401-422.
- [2] Stalberg E, Andreassen S, Falck B, Lang H, Rosenfalck A, Trojaborg W. Quantitative analysis of individual motor unit potentials - a proposition for standardized terminology and criteria for measurement. *J Clin Neurophysiol*, 1986; 3:313-348.
- [3] Sonoo M, Stalberg E. The ability of MUP parameters to discriminate between normal and neurogenic MUPs in concentric EMG: analysis of the MUP "thickness" and the proposal of "size index". *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1993;89:291-303.
- [4] Sonoo M. New attempts to quantify concentric needle electromyography. *Muscle Nerve* 2002; Suppl 11:S98-S102.
- [5] Takehara I, Chu J, Schwartz I, Aye HH. Motor unit action potential (MUAP) parameters affected by editing duration cursors. *Electromyogr Clin Neurophysiol* 2004b; 44:265-269.
- [6] Rodríguez I, Gila L, Malanda A, Gurtubay I, Mallor F, Gómez S, Navallas J, Rodríguez J. Motor unit action potential duration, I: variability of manual and automatic measurements. *J Clin Neurophysiol* 2007a;24:52-58.
- [7] Nandedkar S, Barkhaus P, Charles A. Multi motor unit action potential analysis (MMA). *Muscle Nerve* 1995; 18:1155-1166.
- [8] Bischoff C, Stalberg E, Falck B, Eeg-Olofsson KE. Reference values of motor unit action potentials obtained with multi-MUAP analysis. *Muscle Nerve* 1994;17:842-851.
- [9] Takehara I, Chu J, Li TC, Schwartz I. Reliability of quantitative motor unit action potential parameters. *Muscle Nerve* 2004a;30:111-113.
- [10] Rodríguez I, Gila L, Malanda A, Gurtubay I, Mallor F, Gómez S, Navallas J, Rodríguez J. Motor unit action potential duration, II: a new automatic measurement method based on the wavelet transform. *J Clin Neurophysiol* 2007b;24:59-69.
- [11] Rodríguez I, Gila L, Malanda A, Gurtubay IG, Navallas J, Rodríguez J. Application of a novel automatic duration method measurement based on the wavelet transform on pathological motor unit action potentials. *Clin Neurophysiol* 2010; 121:1574-1583.
- [12] Ghosh PS, Sorenson EJ. Diagnostic yield of Electromyography in children with myopathic disorders. *Pediatric Neurology* 2014; 52(2): 215-219.
- [13] Jian F, Pan H, Zhang Z, Lin J, Chen N, Zhang L, et al. Sphincter electromyography in diabetes mellitus and multiple system atrophy. *Neurol Urodyn*. 2015 Sep;34(7):669-74.
- [14] Florestal JR, Mathieu PA, Malanda A. Automatic decomposition of intramuscular electromyographic signals. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. Vol 53, no. 5, May 2006. pp. 832-839.
- [15] Campos C, Malanda A, Gila L, Segura V, Lasanta MI, Artieda J. Quantification of jiggle in real electromyographic signals. *Muscle Nerve* 2000;23:1022-1034.
- [16] Navallas J, Malanda A, Gila L, Rodríguez J, Rodríguez I, Florestal JR, Mathieu PA. "An algorithm for optimal discharge selection for MUAP waveform extraction". *XVIIth Congress of the International Society of Electrophysiology and Kinesiology*. Turín, 2006.
- [17] Malanda A, Rodríguez-Carreño I, Navallas J, Rodríguez-Falces J, Porta S, Gila L. Sliding window averaging for the extraction of representative waveforms from motor unit action potential trains. *Biomedical Signal Processing and Control*. 27 (2016) 32-43.
- [18] Rodríguez I, Gila L, Malanda A, Gurtubay I, Mallor F, Gómez S, Navallas J, Rodríguez J. Motor unit action potential duration, I: variability of manual and automatic measurements. *J Clin Neurophysiol* 2007a;24:52-58.

Simulación y Planificación Quirúrgica

Miércoles 23 de Noviembre

Comparación de un método de segmentación de tumores retroperitoneales con herramientas comerciales de uso clínico

J. A. Pérez-Carrasco¹, C. Suarez-Mejías², B. Acha¹, José L. López-Guerra², C. Serrano¹

¹ Dpto de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad de Sevilla, Camino de los Descubrimientos, s/n. 41092, Sevilla España, {jperez2@us.es, bacha@us.es, cserrano@us.es}

² Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España, {crisrina.suarez.exts@juntadeandalucia.es, chanodetriana@yahoo.es}

Resumen

En el presente trabajo se realiza una comparación de los resultados proporcionados por una herramienta de segmentación de tumores retroperitoneales y los resultados proporcionados por herramientas comerciales usadas habitualmente en la práctica clínica. 4 volúmenes completos de TAC de diferentes pacientes con tumores retroperitoneales han sido usados para la comparación. Esta comparación se ha realizado haciendo uso de una base de datos de imágenes tumorales utilizada como verdad de referencia, que ha sido segmentada manualmente por un panel de expertos en consenso. Algunos parámetros como DICE, Jaccard, Sensibilidad han sido calculados y los resultados demuestran la validez y mejora de la herramienta propuesta sobre las herramientas de uso clínico habituales.

1. Motivación

En planificación quirúrgica, la realidad virtual es una ayuda para los cirujanos durante la planificación quirúrgica y también durante las intervenciones. Las herramientas más habituales y populares consisten en visores que permiten, en esencia, visualizar modelos 3D y obtener algunas medidas simples, como por ejemplo distancias. Sin embargo, este tipo de herramientas no permite cambiar la geometría de los modelos 3D o simular cirujías. Algunos de los más populares son: AccuLite, AMIDE, Dicom2, Dicom3Tools, Dr Razz, eViewbox, ezDICOM, IDICON [1]. Existen, sin embargo, algunas herramientas software que permiten al usuario la simulación de procesos quirúrgicos y la selección de diferentes tejidos de interés para su posterior reconstrucción y visualización en 3D. Para poder ser ejecutadas son necesarias estaciones de trabajo radiológicas complejas y de gran potencia. Algunas de estas herramientas han sido aplicadas a casi todos los tipos de cirugías, como MIMICS [2] o AYRA [3]. AYRA es el nombre comercial de VirSSPA©, herramienta que ha sido aprobada para uso clínico rutinario y que tiene como objetivo la planificación de cirujías complejas reduciendo el tiempo requerido en salas de operaciones y ayudando por tanto, a evitar posibles complicaciones [4-5]. A día de hoy, ha sido usada en más de 1700 casos reales. La principal desventaja que comparten estas herramientas es que los algoritmos implementados dentro de ellas no son capaces de delimitar eficientemente tumores cuando estos están rodeados de tejido blando.

Este problema también es compartido por la mayoría de estaciones de planificación radiológica. Por tanto, en la práctica, la delimitación de tumores es realizada por los cirujanos o radiólogos de modo manual y corte a corte. Esto implica un tiempo muy elevado sólo dedicado a la delimitación de los tumores y por tanto, no usado en las tareas de planificación. Es por ello, que la disponibilidad de una herramienta de segmentación automática o semiautomática sería de gran ayuda reduciendo el tiempo de delimitación considerablemente y reduciendo además la variabilidad existente interusuario en la delimitación.

La mayoría de algoritmos disponibles en el estado del arte actual se enfocan en tumores de hígado, pulmón, próstata, nodos linfáticos o en el cerebro. En este trabajo, se presenta y compara un algoritmo específicamente diseñado para la segmentación de tumores retroperitoneales rodeados por tejido blando en volúmenes TAC.

Los tumores retroperitoneales aparecen en el espacio retroperitoneal, pero fuera de los órganos principales en este espacio. Estos tumores disponen de una gran libertad de movimiento y crecimiento, haciendo más difícil la detección de los mismos. En promedio, entre el 70 y el 80% de estos tumores son malignos [6]. A día de hoy no existen herramientas eficientes para la segmentación de este tipo de tumores, salvo la herramienta desarrollada por los autores del presente trabajo en [7]. En el trabajo realizado por C. Suárez y col. [7] se describe y compara un método de segmentación de este tipo de tumores con algunos algoritmos de segmentación representativos del estado del arte: umbralización, level sets basados en bordes [8], level sets basados en regiones [9] y un algoritmo de maximización de flujo con dos etiquetas [10]. Sin embargo, estos algoritmos no están implementados en soluciones comerciales de planificación quirúrgica y no son usados por cirujanos o radiólogos en la práctica clínica. Por tanto, en el trabajo actual se muestra la mejora de la herramienta propuesta sobre las herramientas comerciales usadas en la práctica clínica: en particular VirSSPA, y una herramienta comercial de planificación en radioterapia (Pinnacle).

2. Implementación

En este apartado se describen las 3 herramientas para la segmentación de tumores retroperitoneales que serán comparadas en la sección de resultados experimentales.

2.1. Algoritmo propuesto para la segmentación de tumores retroperitoneales

El algoritmo propuesto para la delineación de tumores retroperitoneales, descrito con detalle y validado en [7], incluye el cálculo de una distancia de gradiente acumulado que será usada para la creación de diferentes términos de energía. El algoritmo ha sido programado íntegramente en Matlab® (The MathWorks Inc., MA, USA).

Básicamente, el algoritmo consiste en tres etapas:

1) Aumento de contraste. En la primera etapa, el contraste entre el tumor y el fondo es resaltado. Para ello, se delimita el tumor en un corte del volumen TAC pero sólo de manera muy aproximada. Esta segmentación es usada para extraer el valor Hounsfield promedio dentro del tumor.

2) En la segunda etapa se calcula una distancia de gradiente acumulado sobre el volumen completo 3D. Este gradiente de volumen (GV) se calcula en las tres dimensiones del espacio con el fin de detectar los cambios de contrastes y bordes existentes en la imagen. Una vez que GV es calculado, el siguiente paso es el cálculo de una imagen de distancia de gradiente acumulado (AGD) a partir de la segmentación manual del tumor hacia el resto del volumen. Para este cálculo se hace uso de la función ligeramente modificada de Distancia Generalizada (FDG) descrita en [11]. La imagen de distancia obtenida proporciona valores bajos dentro del área del tumor y valores altos fuera de él. Finalmente, esta imagen es umbralizada y binarizada y usada como máscara en la imagen con contraste aumentado obtenida en el paso anterior. Por tanto, la imagen resultante es denominada *Imagen umbralizada por distancia de Gradiente acumulado (TAGD)*. Esta imagen es usada como entrada en el algoritmo de segmentación de maximización de flujo.

3) Optimización por relajación convexa. En la tercera y última etapa, la segmentación de los tumores es realizada minimizando un término de energía. La técnica de relajación convexa es aplicada a todo el volumen 3D utilizando un modelo de maximización de flujo continuo [12]. La función a minimizar en este algoritmo se define del siguiente modo:

$$\min_{u_i(x) \in [0,1]} \sum_{i=1}^n \int_{\Omega} (u_{i-1}(x) - u_i(x)) \rho_i(x) dx + \int_{\Omega} C(x) |\nabla u_i(x)| dx \quad (1)$$

$$\text{Sujeta a } 1 = u_0(x) \geq u_1(x) \geq \dots u_{n-1}(x) \geq u_n(x) = 0$$

En esta ecuación x representa la posición del vóxel, $u_i(x) \in [0,1]$ representa las etiquetas, que en lugar de utilizar valores binarios (como ocurre en una optimización no convexa), pueden tomar valores reales entre 0 y 1. $\rho_i(x)$ es una función que toma valores bajos dentro de la región i y valores altos fuera de ella. En la herramienta considerada en este trabajo se han considerado cuatro etiquetas ($n=4$) y las diferentes $\rho_i(x)$ se han obtenido del siguiente modo:

$$\begin{aligned} \rho_1(x) &= |TAGD(x) - 0| \\ \rho_2(x) &= |TAGD(x) - \mu + \sigma| \\ \rho_3(x) &= |TAGD(x) - \mu| \\ \rho_4(x) &= |TAGD(x) - \mu - 4\sigma| \end{aligned} \quad (2)$$

μ representa el valor promedio de nivel de gris dentro del tumor en el corte segmentado y σ la desviación típica obtenida.

La función de penalización $C(x)$ que aparece en la Eq. (1) se calcula como sigue:

$$C(x) = \frac{b}{1 + a \cdot |\nabla TAGD(x)|} \quad (3)$$

En Eq. (3) los parámetros a y b controlan la penalización y peso del gradiente para cada posición x . En los experimentos realizados los valores experimentales elegidos para a y b fueron 100 y 2 respectivamente.

Tras la minimización el tumor quedará concentrado en las etiquetas centrales 2 y 3, mientras que las etiquetas 1 y 4 corresponderán al fondo y a otros tejidos, respectivamente.

2.2. Herramienta de planificación quirúrgica

AYRA es una herramienta utilizada en la práctica clínica para planificación quirúrgica. La herramienta tiene mínimos requerimientos para su instalación (2GB RAM) y tiene implementados tres algoritmos de segmentación:

1) Umbralización. Para este algoritmo los médicos disponen de una barra de umbralización configurable que les permite seleccionar el rango de valores Hounsfield que quieren visualizar.

2) Crecimiento de regiones. Con este algoritmo los médicos pueden colocar diferentes semillas en diferentes localizaciones del volumen y, de acuerdo a un determinado criterio de inclusión, el tejido de interés es seleccionado.

3) Crecimiento de regiones adaptativo. El tercer algoritmo está basado en un algoritmo de crecimiento de regiones completamente descrito en [13].

2.3. Herramienta para planificación radiológica

Para la comparación con las herramientas de planificación de tratamiento radiológico, se utilizó Pinnacle 9.8 [14] (que es el programa usado en el Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla). Pinnacle permite calcular las dosis de radioterapia necesarias en diferentes casos tumorales. Pinnacle dispone de un algoritmo semiautomático basado en crecimiento de regiones con múltiples semillas que requiere la selección manual del contorno en tres cortes del tumor y un rango de niveles Hounsfield dentro del tumor.

3. Resultados Experimentales

Para poder realizar una comparación entre las tres herramientas descritas en el apartado anterior, un panel de expertos en la delimitación de tumores retroperitoneales segmentó manualmente y en consenso 4 casos completos

elegidos aleatoriamente de pacientes con tumores retroperitoneales en volúmenes TAC. El panel de expertos está formado por cuatro oncólogos expertos en el contorno de tumores retroperitoneales utilizando estaciones de planificación radioterápica y por dos expertos en el uso de herramientas de planificación de cirugía. El mismo panel de expertos segmentó en consenso los 4 casos haciendo uso de las tres herramientas descritas.

Los 4 casos fueron elegidos aleatoriamente y corresponden a diferentes pacientes masculinos con edades entre 16 y 43, siendo el promedio 28 años de edad. Para cada paciente se obtuvo su consentimiento informado. El equipo de adquisición fue un TAC helicoidal de Philips con una resolución de 512x512 píxeles por corte y 7 mm de grosor.

Para realizar la comparativa entre el algoritmo propuesto, los algoritmos implementados en VirSSPA y el algoritmo semiautomático en Pinnacle, se calcularon diferentes parámetros. Estos parámetros miden el grado de acuerdo entre los resultados obtenidos y las verdades de referencia en función de los verdaderos positivos (TP), verdaderos negativos (TN), falsos positivos (FP) y falsos negativos (FN). Los parámetros obtenidos fueron los siguientes: Sensibilidad, Especificidad, Valor Predictivo Positivo, Dice y Jaccard [7]. Estos parámetros se muestran en la Tabla 1.

	Sensibilidad	Especificidad	PPV	Jaccard	Dice
Umbrales AYRA	0.39 ±0.24	0.96 ±0.01	0.09 ±0.10	0.08 ±0.09	0.15 ±0.15
Crecimiento de Regiones AYRA	0.27 ±0.13	0.97 ±0.01	0.09 ±0.08	0.07 ±0.06	0.13 ±0.11
Crecimiento de regiones adaptativo AYRA	0.35 ±0.19	1.46 ±0.01	0.13 ±0.13	0.10 ±0.10	0.18 ±0.17
Planificador Pinnacle	0.29 ±0.16	1.41 ±0.05	0.11 ±0.13	0.03 ±0.01	0.06 ±0.03
Algoritmo Propuesto	0.86 ±0.11	1.00 ±0.00	0.89 ±0.04	0.78 ±0.13	0.87 ±0.08

Tabla 1. Parámetros Sensibilidad, Especificidad, PPV, Jaccard y Dice para cuatro casos analizados.

Tal como se puede observar a partir de los valores descritos en la tabla, AYRA y Pinnacle fueron incapaces de segmentar los tumores correctamente. El principal problema de estos algoritmos es que los diferentes métodos son muy sensibles a la inicialización de los parámetros y a la elección de las semillas iniciales en los algoritmos de crecimiento. En todos los casos analizados, los algoritmos de AYRA y Pinnacle, o bien seleccionaban muy pocos píxeles o seleccionaban casi todas las estructuras presentes.

Puede observarse que el algoritmo propuesto basado en maximización de flujo con relajación convexa sí que proporciona muy buenos resultados. En particular, los parámetros sensibilidad, especificidad y DICE fueron del 86%, 100% y 0.87 respectivamente.

La Fig. 1 muestra el resultado de la segmentación proporcionado por cada uno de los algoritmos para un corte del volumen.

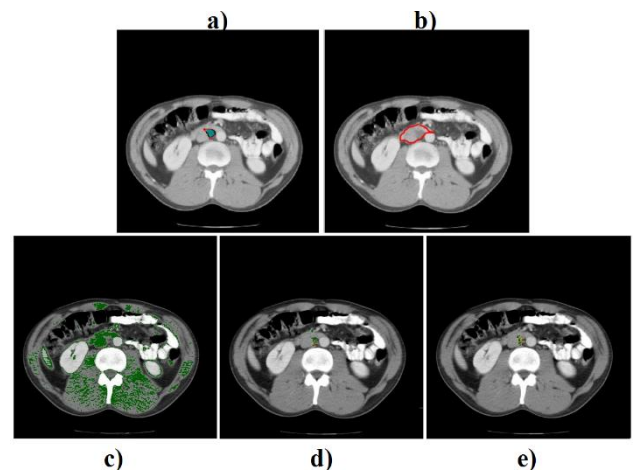


Figura 1. a) Resultado (en azul) proporcionado por el algoritmo propuesto. La verdad de referencia se representa con un contorno rojo. b) Algoritmo de crecimiento de regiones incluido en Pinnacle (contorno rojo). c) Resultado del algoritmo de umbralización incluido en AYRA (verde). d) Algoritmo de crecimiento de regiones en AYRA (verde). e) Algoritmo de crecimiento de regiones adaptativo (verde).

La Figura 2 muestra una reconstrucción 3D de uno de los casos proporcionados por el algoritmo propuesto. En amarillo se representa la verdad de referencia y en rojo se representa el resultado del algoritmo. Nótese cómo ambos colores solapan prácticamente en toda la región del tumor. La representación en 3D proporcionada por los otros algoritmos no se representa debido a los malos resultados obtenidos en el volumen.



Figura 2. Representación en 3D de uno de los casos segmentados por el algoritmo propuesto. En amarillo se representa la verdad de referencia. En rojo se representa el resultado del algoritmo.

Además de los anteriores parámetros se evaluó el tiempo computacional requerido para evaluar la segmentación. En la Tabla 2 se muestran los tiempos computacionales

requeridos por las 3 herramientas y por los oncólogos en la delimitación manual de los tumores. Como puede observarse, el algoritmo proporciona tiempos de segmentación mucho menores (91% menos) en comparación con la segmentación manual de los oncólogos, pasando de minutos/horas en la segmentación manual a segundos en la segmentación por la herramienta. Por ejemplo, un tumor que ocupe 20 cortes en un volumen TAC requeriría un tiempo de segmentación manual de 660 segundos aproximadamente (11 minutos aprox.), mientras que el algoritmo descrito necesitaría poco más de 1 minuto. El equipo utilizado para estos cálculos fue un PC Intel® Core™ i7-2670QM, CPU @ 2,20GHz, con 6GB de RAM.

Algoritmo propuesto	AYRA Umbral.	AYRA Crecim. Region	AYRA Crecim. Reg. Adap.	Pinnacle	Segm. Manual	
Tiempo promedio (segundos /corte)	4	12,5	50,2	90	12,4	33

Tabla 2. Tiempos computacionales obtenidos por cada uno de los algoritmos. Los resultados se representan en segundos por corte.

4. Conclusiones

En este trabajo se ha realizado una comparación de una técnica de segmentación de tumores retroperitoneales basado en una técnica de optimización de relajación convexa continua con herramientas de delimitación de tumores usadas habitualmente en el ámbito clínico: AYRA y Pinnacle.

Los resultados obtenidos indican que la herramienta propuesta es válida para la segmentación de este tipo particular de tumores y los resultados son mucho mejores que los proporcionados por las 2 aplicaciones. En futuras implementaciones se abordará la posibilidad de incluir la herramienta descrita en tales plataformas para facilitar a cirujanos y radiólogos la mejor planificación en tratamientos de este tipo de tumores al proporcionar una delimitación más exacta, homogénea y rápida de los mismos.

La similitud de los valores Hounsfield de los tumores retroperitoneales con los valores Hounsfield de tejidos circundantes hace complicada la delineación de los mismos con las herramientas clínicas habituales.

El algoritmo, además de mejorar a las herramientas habituales requiere de tiempos de computación mucho menores, pasando de minutos/horas en la segmentación manual a segundos haciendo uso de la herramienta, lo que supone un ahorro computacional de un 91% aproximadamente.

Agradecimientos

El trabajo ha sido cofinanciado a través de los proyectos P11-TIC-7727 (Junta de Andalucía), PT13/0006/0036 (Fundaciones RETIC y ERDF)

Referencias

- [1] AccuLite, AMIDE, Dicom2, Dicom3Tools, eViewbox, ezDICOM, iRad, IrfanviewMicroDICOM, MyPACS, Osirix Viewer, Offis and XN View et <https://www.xrayscan.com/software-free-dicom-viewers/>. (Consultada: Septiembre 2016)
- [2] MIMICS, <http://biomedical.materialise.com/mimics>. (Consultada: Septiembre 2016)
- [3] AYRA, http://www.ikiria.es/ayra_descripcion_eng.html. (Consultada: Septiembre 2016)
- [4] Suárez C, Acha B, Serrano C, Parra C, Gómez T. VirSSPA- a virtual reality tool for surgical planning workflow, *International Journal Radiology of Computer Assisted Radiology and Surgery*, vol 4, sup 2, 2009, pp 133-9.
- [5] Gómez-Cía T, Gacto-Sánchez P, Sicilia D, Suárez C, Acha B, Serrano C, Parra C, De La Higuera J. The virtual reality tool VirSSPA in planning DIEP microsurgical breast reconstruction, *International Journal Radiology of Computer Assisted Radiology and Surgery*, vol 4, sup 4, 2009, pp 375-382. doi: 10.1007/s11548-009-0311-4.
- [6] Rajiah P, Sinha R, Cuevas C, Dubinsky TJ, Bush WH, Kolokythas O. *Imaging of Uncommon Retroperitoneal Masses. RadioGraphics*, vol 31, sup 4, 2011, pp 949-976. doi: <http://dx.doi.org/10.1148/rg.314095132>.
- [7] Suárez-Mejías C, Pérez-Carrasco JA, Serrano C, López-Guerra JL, Parra-Calderón C, Gómez-Cía T, Acha B Three dimensional segmentation of retroperitoneal masses using continuous convex relaxation and accumulated gradient distance for radiotherapy planning, *Medical & Biological Eng & Computing (MBEC)*, DOI: 10.1007/s11517-016-1505-x.
- [8] Li C, Xu C, Gui C, Fox M D (2010) Distance Regularized Level Set Evolution and Its Application to Image Segmentation. *IEEE T Image Process*, vol 19, sup 12, pp 3243-3254.
- [9] Chan TF, Vese LA () Active contours without edges. *IEEE T Image Process*, vol 10, sup 2, 2001, pp 266-277.
- [10] Perez-Carrasco J, Suárez-Mejias C, Serrano C, López-Guerra J, Acha B. Segmentation of Retroperitoneal Tumors Using Fast Continuous Max-Flow Algorithm. *XIII Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing*, vol 41, 2013, pp 360-363.
- [11] Vincent L. Minimal path algorithms for the robust detection of linear features in gray images, *ISSM*. 1998; , pp 331-338.
- [12] Yuan J, Bae E, Xue-Cheng T, Yuri B () A continuous max-flow approach to potts model, *ECCV 2010, Part VI, LNCS* vol 6316, 2010, pp 379-392.
- [13] Mendoza C, Acha Piñero B, Serrano Gotarredona M C, Gómez Cía P T. Fast parameter-free region growing segmentation with application to surgical planning. *Machine Vision and Applications*, vol 23, sup 1, 2012, pp 165-177. DOI: 10.1007/s00138-010-0274-z.
- [14] Página de Pinnacle 9.8. http://www.healthcare.philips.com/main/products/ros/products/pinnacle3_98/ (Consultada: Septiembre 2016)

Estudio por simulación de las técnicas IBC galvánicas aplicadas a la estimulación neuronal: una aproximación mediante FEM

M.A. Callejón^{1,2}, L. Fernández-Jiménez¹, L.J. Reina-Tosina^{2,3}, L. M. Roa^{1,2}

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Sevilla, Sevilla, España

² Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Sevilla, España

³ Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad de Sevilla, Sevilla, España

Resumen

Las técnicas de neuromodulación han mostrado su eficacia en el tratamiento de múltiples patologías neurológicas. Sin embargo, los mecanismos bioeléctricos subyacentes al proceso de neuromodulación aún se desconocen, de ahí que no exista una metodología sistemática para la configuración de los parámetros de estimulación. Es necesario seguir investigando en nuevas estrategias que permitan estimular las zonas objetivo del cerebro con mayor precisión y de forma personalizada. En este trabajo se propone el estudio de la viabilidad de las técnicas de comunicaciones intracorporales (IBC) galvánicas aplicadas al cerebro. Para ello, se ha propuesto un primer modelo eléctrico computacional de la cabeza humana mediante la técnica de elementos finitos (FEM), lo que nos ha permitido analizar variables como el campo eléctrico y la densidad de corriente a través de los tejidos cerebrales y obtener conclusiones sobre parámetros clave como la frecuencia y la configuración de los electrodos.

1. Introducción

La utilidad de las técnicas de neuromodulación como Deep Brain Stimulation, Transcranial Magnetic Stimulation y Transcranial Direct Current Stimulation [1] ha sido demostrada en el tratamiento de un amplio espectro de patologías neurológicas como Parkinson, epilepsia, esquizofrenia, depresión severa, etc [2,3]. Dado su amplio rango de aplicación y la prevalencia de este tipo de enfermedades, estas técnicas pueden constituir una potente herramienta terapéutica en un futuro cercano [4]. Sin embargo, aún existen importantes retos científico-técnicos a solventar con el fin de optimizar los resultados terapéuticos observados [5]. En particular, se desconocen aún los mecanismos eléctricos subyacentes al proceso de neuromodulación [6,7], de tal forma que los parámetros de estimulación se definen a menudo por prueba y error según las recomendaciones de seguridad y la experiencia clínica [8]. Esto explica que no exista una metodología con base científica que permita establecer dichos parámetros de forma sistemática y precisa en cada caso. Al mismo tiempo, si bien es cierto que se han logrado importantes avances en el modelado computacional del cerebro [9-11], se echan en falta modelos eléctricos de los tejidos cerebrales como medio de transmisión que ayuden a analizar cuestiones clave como rangos de frecuencia óptimos, valores mínimos de señal, caminos de corriente a través de los tejidos [12], métodos de acople de la señal

que mejoran el rango, precisión, especificidad y profundidad de penetración de la corriente hacia las áreas diana del cerebro, etc. Por ello se necesitan nuevas aproximaciones que permitan optimizar el diseño de las terapias de estimulación. En este sentido, en este trabajo se propone estudiar la viabilidad de las técnicas IBC galvánicas, las cuales usan los tejidos biológicos como medio de transmisión de señales eléctricas para la interconexión de dispositivos en piel e implantados [13]. A diferencia de los métodos de neuromodulación, las técnicas IBC galvánicas operan en un rango de frecuencia mayor entre 100 Hz y 1 MHz [14]. Un trabajo publicado por los autores en [15] muestra que la frecuencia de transmisión y la configuración de los electrodos son dos parámetros clave que modulan los caminos de corriente eléctrica a través de los tejidos. De esta forma, nuestra hipótesis se basa en que el uso de las técnicas IBC en otras bandas de frecuencia [12,16] puede dar lugar al establecimiento de nuevas estrategias de estimulación con el fin de activar/desactivar zonas específicas del cerebro con mayor precisión y en función de las propiedades anatómicas y dieléctricas de cada usuario [17].

Según las razones expuestas, el objetivo principal de este trabajo es profundizar en el conocimiento de los mecanismos bioeléctricos que ocurren en los tejidos cerebrales durante el proceso de neuromodulación, mediante un estudio por simulación de las técnicas IBC galvánicas aplicadas al cerebro humano. Para ello se ha realizado una primera propuesta de modelo computacional eléctrico 3D del cerebro basado en técnicas FEM. Este modelo ha permitido analizar diferentes variables eléctricas como la distribución de campo eléctrico, la densidad y porcentaje de corriente a través de los tejidos cerebrales en función de parámetros como la frecuencia y la configuración de los electrodos.

2. Modelo computacional FEM propuesto

2.1. Geometría y parámetros del modelo

El modelo propuesto consiste en una aproximación de esferas concéntricas en la que cada una de ellas representa un tejido de la cabeza humana: piel, grasa subcutánea, cráneo, líquido cefalorraquídeo (LCR), materia gris y materia blanca. La Fig. 1a) muestra la geometría 3D del modelo propuesto y la Fig. 1b) un corte de esta misma con

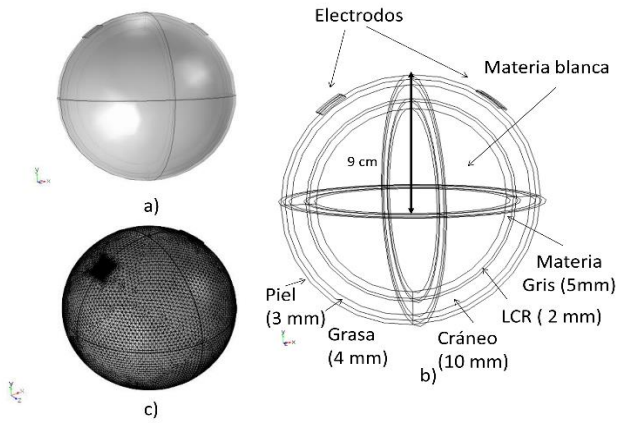


Figura 1. Geometría del modelo propuesto para cabeza humana. a) Vista externa modelo 3D esférico b) Vista interna con secciones de tejidos cerebrales c) Vista resultante con mallado.

las secciones de cada tejido (según proporciones anatómicas reales). Los electrodos fueron colocados formando un par en acoplamiento IBC galvánico con un espesor de 1 mm y un área de 2 cm x 2 cm [14,15]. La compleja característica en frecuencia de las propiedades dieléctricas de los tejidos, es decir, la conductividad eléctrica σ y la permitividad dieléctrica ϵ fueron introducidas según modelos de Cole-Cole de cuatro dispersiones acorde con los datos experimentales reportados por Gabriel *et al.* en [18] para piel, grasa, cráneo, materia gris y blanca. En el caso del LCR, existen medidas in-vitro publicadas en la literatura [19] para algunas frecuencias puntuales. En este trabajo hemos realizado una interpolación de las mismas en frecuencia según las conclusiones derivadas de [20].

2.2. Ecuaciones del modelo

El modelo propuesto ha sido implementado haciendo uso de la interfaz Electric Currents dentro del módulo AC/DC del software COMSOL Multiphysics 4.3a, que resuelve un problema de conservación de la carga para el potencial eléctrico en su aproximación cuasiestática mediante la técnica FEM. En concreto, la formulación incluye la ecuación de continuidad de la carga junto con la ecuación de Gauss para el campo eléctrico:

$$\nabla \cdot \mathbf{J} = \nabla \cdot (\sigma \mathbf{E} + \mathbf{J}_e) = -j\omega\rho \quad (1)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{D} = \rho \quad (2)$$

$$\mathbf{D} = \epsilon_0 \mathbf{E} + \mathbf{P} = \epsilon_0 \epsilon_r \mathbf{E} \quad (3)$$

dando lugar a la siguiente ecuación en el dominio de la frecuencia:

$$-\nabla \cdot ((\sigma + j\omega\epsilon_0)\nabla V - (\mathbf{J}_e + j\omega\mathbf{P})) = 0 \quad (4)$$

donde \mathbf{J} es la densidad de corriente [A/m^2], σ la conductividad eléctrica [S/m], \mathbf{E} es la intensidad de campo eléctrico [V/m], \mathbf{J}_e la densidad de corriente impresa (fuente) [A/m^2], ω la frecuencia angular [rad/s] y ρ la densidad de carga eléctrica [C/m^3]. \mathbf{D} representa el vector desplazamiento eléctrico [C/m^2], \mathbf{P} es el vector de polarización eléctrica [C/m^2], ϵ_r la permitividad relativa [F/m] y ϵ_0 la permitividad del vacío. Por último, V es el potencial eléctrico [V].

2.3. Computación del modelo y simulaciones realizadas

Para la computación del modelo la geometría esférica ha sido mallada usando un elemento con forma de tetraedro extrafino, siendo esta la opción de mallado por defecto más precisa provista por COMSOL Multiphysics para la física seleccionada. El mallado resultante puede verse en la Fig. 1c). Cabe destacar por otro lado que la formulación cuasiestática sólo es válida cuando la longitud de onda es mucho mayor que las dimensiones de la geometría propuesta, de tal forma que se pueden despreciar los efectos inductivos y de propagación de ondas. Por esta razón, el límite de frecuencia de nuestro estudio ha sido fijado a 1 MHz, rango comúnmente aplicado en las técnicas de acoplamiento galvánico IBC [13-15]. La conductividad dada al electrodo ha sido de 2 S/m y el valor de corriente inyectada de 1 mA [17]. En cuanto a las simulaciones realizadas, se han estudiado variables eléctricas como campo eléctrico, densidad de corriente y porcentaje de corriente en cada tejido cerebral. Se ha analizado también el efecto de la distancia inter-electrodo en la distribución del porcentaje de corriente que fluye por cada tejido para distancias comprendidas entre 3 y 28 cm, correspondientes a configuraciones en las que los electrodos se encuentran muy juntos entre sí en la parte superior de la cabeza o enfrentados a lo largo de la línea media de la misma.

3. Resultados

En este apartado se muestra la respuesta en frecuencia de las variables eléctricas simuladas en los distintos tejidos cerebrales, así como los resultados del estudio de distintas configuraciones de electrodos.

3.1. Respuesta en frecuencia

En este apartado se muestra la respuesta en frecuencia (entre 100 Hz y 1 MHz) de las variables eléctricas simuladas: campo eléctrico (Fig. 2), densidad de corriente (Fig. 3) y porcentaje de corriente (Fig. 4) en cada tejido de la cabeza humana. Se consideró una distancia entre electrodos de 12 cm para todas las frecuencias analizadas. A pesar de que son pocos los trabajos que han hecho un estudio de las técnicas de estimulación en frecuencia, los valores obtenidos están en el mismo rango de magnitud tanto para el campo eléctrico como la densidad de corriente que los publicados en la literatura [9-12, 16]. La mayor parte del campo eléctrico se confina en la piel a bajas frecuencias en la zona cercana al electrodo, mientras que permanece aproximadamente constante en las regiones internas como materia gris y blanca. Esto puede deberse a que, dado que la excitación es una corriente de amplitud constante, el campo eléctrico sigue la evolución de la resistividad mostrada por los tejidos, la cual es decreciente en frecuencia. Con respecto a la densidad de corriente, la Fig. 3 muestra que el flujo eléctrico se confina principalmente en el LCR, dada su alta conductividad. La densidad de corriente en las capas más externas empieza a aumentar a partir de 10^5 Hz, debido igualmente al aumento de su conductividad a partir de esta frecuencia. También se observa un ligero aumento de la densidad de corriente en los tejidos internos como materia gris y blanca. La Fig. 4 muestra el porcentaje de corriente (con respecto a la

inyectada) que llega a cada tejido. Dicha figura confirma los resultados de densidad de corriente, así como la importancia del área de tejido.

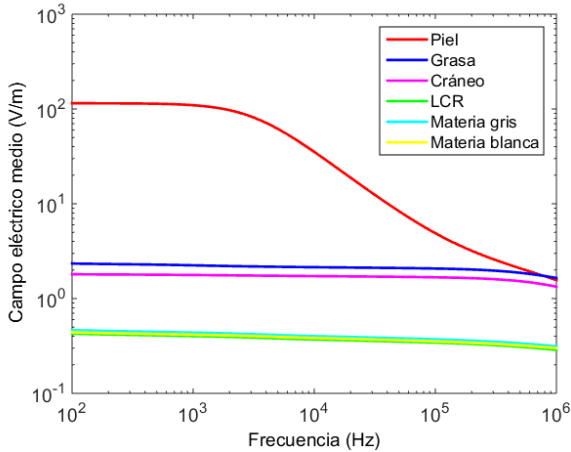


Figura 2. Valor medio volumétrico de campo eléctrico (V/m) en cada tejido de la cabeza humana en función de la frecuencia y para una distancia inter-electrodo de 12 cm.

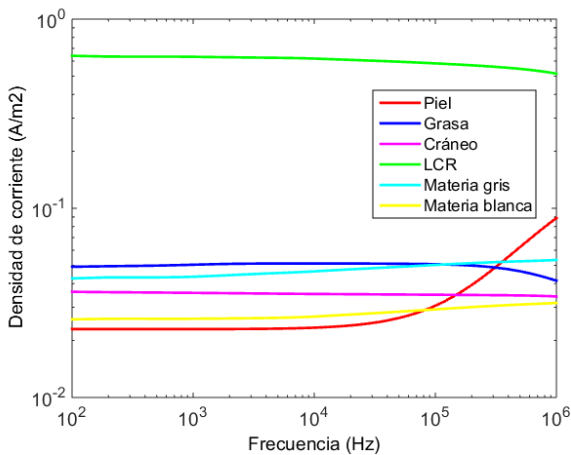


Figura 3. Valor medio volumétrico de la densidad de corriente (A/m²) en cada tejido de la cabeza humana en función de la frecuencia y para una distancia inter-electrodo de 12 cm.

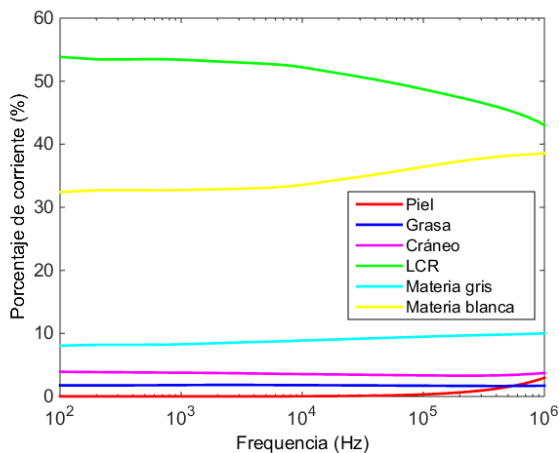


Figura 4. Porcentaje de corriente que fluye a través de cada tejido en función de la frecuencia

Puede verse que más de la mitad de la corriente inyectada fluye a través del LCR, mientras que un porcentaje ligeramente superior al 30% fluye por la materia blanca, la cual, a pesar de no mostrar propiedades conductivas tan altas, sí presenta un área considerablemente mayor. Esta contribución crece ligeramente conforme la frecuencia aumenta, a costa de un decremento en el LCR.

3.2. Influencia de la configuración de los electrodos

Para este estudio la frecuencia se fijó a un valor intermedio de 100 kHz y se varió la distancia entre electrodos entre 3 y 28 cm. La Fig. 5 muestra los perfiles de distribución de corriente en los planos XY y YZ para cuatro separaciones inter-electrodo de 3, 12, 18 y 24 cm. Nótese que el plano XY es el que atraviesa la mitad de la cabeza en el plano donde se encuentran los electrodos y el plano YZ el que divide el cerebro en dos hemisferios. En esta figura se han eliminado las capas externas para una mejor visualización de la densidad de corriente a través de la materia gris y blanca. De la observación de la figura puede concluirse que el aumento de la distancia entre electrodos se traduce en un aumento de la densidad de corriente en los tejidos cerebrales internos. No obstante, como se ha visto en el apartado anterior, el área es un factor importante que determina el nivel de corriente total, por lo que en la Fig. 6 se representa también el porcentaje de corriente que fluye a través de cada tejido. Puede verse de nuevo que el LCR es el tejido por el que fluye mayor corriente en casi todos los casos, sobre todo para separaciones más pequeñas, para las que la corriente se confina en las capas más externas. Una posible explicación es que las líneas de corriente se distribuyen principalmente entre los electrodos, colocados muy cerca entre sí, sin penetrar hacia los tejidos más profundos. Por el contrario, conforme aumenta la separación entre ambos, el porcentaje de corriente disminuye en las capas externas y aumenta en la materia gris, que llega a igualar al del LCR. Esto puede deberse al hecho de que, al encontrarse los electrodos enfrentados en la línea media de la cabeza, las líneas de corriente se distribuyen de forma más amplia a través esta, penetrando hacia los tejidos internos. En el caso de la materia gris, se consigue un pico de corriente a una distancia aproximada de 5 a 6 cm.

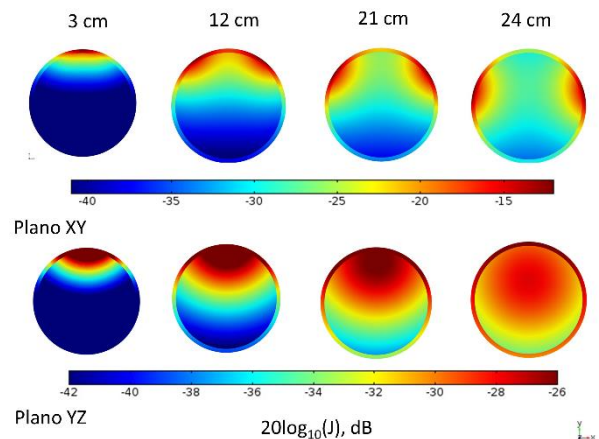


Figura 5. Influencia de la distancia inter-electrodo en los perfiles de densidad de corriente en escala logarítmica a través de la materia gris y blanca.

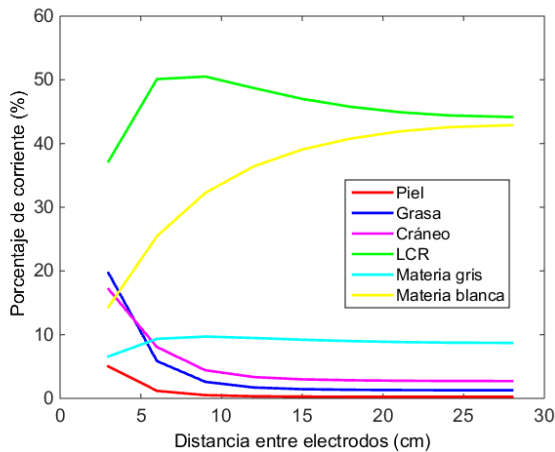


Figura 6. Porcentaje de corriente que fluye a través de cada tejido en función de la distancia entre electrodos.

4. Conclusiones

Las principales conclusiones que se derivan del estudio por simulación realizado sobre las técnicas IBC galvánicas aplicadas al cerebro son: a) las técnicas IBC añaden un nuevo parámetro que es la frecuencia, capaz de modular los niveles de campo eléctrico y densidad de corriente en los tejidos cerebrales, según las zonas objetivo; b) Los resultados obtenidos demuestran una fuerte dependencia con las propiedades dieléctricas de los tejidos y su área: la mayor parte de la corriente fluye a través del LCR por su alto valor de conductividad, pero también a través de la materia blanca, debido a su gran área, y c) La posición y configuración de los electrodos es un parámetro clave en el proceso de estimulación, el cual permite también dirigir el flujo de corriente hacia unas zonas u otras del cerebro.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en parte por el Fondo de Investigaciones Sanitarias, Instituto de Salud Carlos III, bajo los proyectos PI15/00306 y DTS15/00195, y en parte por el CIBER-BBN bajo los proyectos INT-2-CARE, NeuroIBC y ALBUMARK.

Referencias

[1] Lewis PM, Thomson RH, Rosenfeld JV, Fitzgerald P.B. Brain Neuromodulation Techniques: A Review. *Neuroscientist*, vol. 22, no. 4, 2016, pp. 406-421.

[2] Krishna V, Sammartino F, King NKK, So RQY, Wennberg R. Neuromodulation for Epilepsy. *Neurosurg. Clin. N. Am.*, vol. 27, no. 1, 2016, pp. 123-131.

[3] Fitzgerald PB. Deep brain stimulation in depression. *Aust. N. Z. J. Psychiatry*, vol. 50, no. 1, 2016, pp. 94-95.

[4] Luan S, Williams I, Nikolic K, Constandinou TG. Neuromodulation: present and emerging methods. *Front. Neuroeng.*, vol. 7, no. JUL, 2014, p. 27.

[5] Abejon D, Arango S, Riquelme I, and Del Saz J. Neuromodulation techniques, complications, and troubleshooting. *Tech. Reg. Anesth. Pain Manag.*, vol. 18, no. 1-2, 2014, pp. 49-57.

[6] Ye H, Steiger A. Neuron matters: electric activation of neuronal tissue is dependent on the interaction between the

neuron and the electric field. *J. Neuroeng. Rehabil.*, vol. 12, 2015, p. 65.

[7] Yi G-S *et al.* Exploring how extracellular electric field modulates neuron activity through dynamical analysis of a two compartment neuron model. *J. Comput. Neurosci.*, vol. 36, no. 3, 2014, pp. 383-99.

[8] Rossini P *et al.* Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord, roots and peripheral nerves: Basic principles and procedures for routine clinical and research application. An updated report from an I.F.C.N. Committee. *Clin. Neurophysiol.*, vol. 126, no. 6, 2015, pp. 1071-1107.

[9] Song B, Wen P, Ahfock T, Li Y. Numeric Investigation of Brain Tumor Influence on the Current Distributions During Transcranial Direct Current Stimulation. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 63, no. 1, 2016, pp. 176-187.

[10] Kwon OI *et al.* Current Density Imaging During Transcranial Direct Current Stimulation Using DT-MRI and MREIT: Algorithm Development and Numerical Simulations. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 63, no. 1, 2016, pp. 168-75.

[11] Rampersad SM *et al.*, Simulating Transcranial Direct Current Stimulation With a Detailed Anisotropic Human Head Model. *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering*, vol. 22, no. 3, 2014, pp. 441-452.

[12] Wagner T *et al.* Impact of brain tissue filtering on neurostimulation fields: A modeling study. *Neuroimage*, vol. 85, 2014, pp. 1048-1057.

[13] Seyedi M, Kibret B, Lai DTH, Faulkner M. A survey on intrabody communications for body area network applications. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 60, no. 8, 2013, pp. 2067-79.

[14] Callejon M, Reina-Tosina J, Naranjo D, Roa LM. Measurement issues in galvanic intrabody communication: influence of experimental setup. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 62, no. 11, 2015, pp. 2724-2732.

[15] Callejon MA, Reina-Tosina J, Naranjo-Hernandez D, Roa LM. Galvanic coupling transmission in intrabody communication: a finite element approach. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 61, no. 3, 2014, pp.775-83.

[16] Lopes S, Davies N, Toumazou C and Grossman N. Theoretical investigation of transcranial alternating current stimulation using laminar model, in *2012 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, San Diego, CA, 2012, pp. 4152-4155.

[17] Salvador R, Ramirez F, Vyacheslavovna M and Miranda PC. Effects of tissue dielectric properties on the electric field induced in tDCS: a sensitivity analysis, in *34th IEEE EMBS Annual International Conference*, San Diego, California USA, 2012.

[18] Gabriel S, Lau RW, Gabriel C. The dielectric properties of biological tissues: III. Parametric models for the dielectric spectrum of tissues. *Phys. Med. Biol.*, vol. 41, no. 11, 1996, pp. 2271-93.

[19] Gabriel C, Peyman A, Grant EH. Electrical conductivity of tissue at frequencies below 1 MHz. *Phys. Med. Biol.* vol. 54, 2009, pp. 4863-4878.

[20] Wagner TA, Zahn M, Grodzinsky AJ, Pascual-Leone A. Three Dimensional Head Model Simulation of Transcranial Magnetic Stimulation. *IEEE Transaction on biomedical engineering*, vol. 51, no. 9, 2004, 1586-1598.

Impresión 3D de escritorio dentro del entorno clínico

G. Rodríguez-Lozano^{1,2}, V. García-Vázquez², R. Pérez-Mañanes^{1,2,3}, J. A. Calvo Haro^{1,2,3},
M. Cuervo^{1,2,3}, M. Desco^{2,4,5}, J. Pascau^{2,4,5}, J. Vaquero^{1,2,3}

¹ Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España, {jvaquero, miguel.cuervo}@salud.madrid.org

² Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España, {guillermo.rodriguez}@iisgm.com, {vgarcia, jpascau, desco}@hggm.es

³ Departamento de Cirugía, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España, {rubenperez.phd, calvoharo.md.phd}@gmail.com

⁴ Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, Madrid, España,

⁵ Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Madrid, España

Resumen

La impresión 3D en el campo de la medicina está llamada a desempeñar un papel fundamental. La aplicación clínica de esta tecnología no es nueva, pero la expansión de la impresión 3D de escritorio permite llevar al propio centro hospitalario una herramienta para desarrollar determinados proyectos in situ a bajo coste. Fruto de la colaboración entre médicos e ingenieros, en este estudio se presenta un flujo de trabajo que cubre los pasos desde que se obtienen las imágenes preoperatorias del paciente hasta la esterilización de las piezas impresas diseñadas específicamente para el tratamiento. Las aplicaciones de las piezas impresas en el último año en nuestro centro abarcan distintos enfoques, desde la planificación quirúrgica hasta la mejora en la comunicación con el paciente y como estrategia educativa para formar a los nuevos médicos. Se presenta el análisis del comportamiento de las piezas impresas en ácido poliláctico frente al proceso de esterilización mediante óxido de etileno, comprobando que el programa a baja temperatura (37°C) era el más adecuado para esterilizar este material minimizando las deformaciones. Además, se presenta una evaluación del error de impresión respecto al diseño inicial con resultados en torno a 0.5 mm. Nuestra experiencia demuestra la capacidad de la tecnología de impresión 3D de escritorio para facilitar el flujo de trabajo clínico en un entorno de trabajo multidisciplinar.

1. Introducción

La impresión 3D es un tipo de manufactura aditiva que permite transformar un modelo digital en un objeto tridimensional real. Los objetos se construyen capa a capa, empleando para ello diferentes tecnologías, como son la estereolitografía (*stereolithography*, SLA) o la deposición de filamento fundido (*fused deposition modeling*, FDM, o *fused filament fabrication*, FFF). Esta técnica fue pionera en la década de los 80 en iniciar lo que hoy se conoce como impresión 3D. Limitada durante mucho tiempo a un ámbito profesional e industrial, con sistemas que costaban cientos de miles de euros, la impresión 3D ha evolucionado hasta llegar al usuario particular. Los principales responsables de este fenómeno han sido el movimiento *maker* y la comunidad *RepRap*, los cuales fomentan que el usuario tome un rol protagonista en el desarrollo de estos proyectos, haciendo asequible el uso de esta tecnología. Al igual que sucedió

en el pasado con la impresión 2D, la necesidad del usuario de utilizar estas herramientas desde su propio hogar o lugar de trabajo ha hecho surgir las primeras impresoras 3D de escritorio.

Si bien la introducción de impresión 3D en el campo de la medicina es prometedora, no es tan novedosa como puede parecer. La impresión 3D ha sido empleada en el pasado en la fabricación de implantes a medida, en prototipos o en la planificación quirúrgica [1]. Sin embargo, estos proyectos se llevaban a cabo en su mayoría con tecnologías con un alto coste económico para los centros hospitalarios, encargando su producción a empresas externas. La externalización del conocimiento, los tiempos de espera entre el inicio del proyecto y la recepción de los productos y los elevados costes que suelen tener este tipo de servicios imposibilita su uso cotidiano. En este trabajo se plantea un cambio de paradigma, de modo que la impresión 3D de escritorio permita a los hospitales abandonar el perfil de *consumidores* y convertirse en *productores*. El trabajo colaborativo entre ingenieros y médicos permite desarrollar este tipo de proyectos, donde la tecnología de bajo coste se integra en la práctica clínica.

La impresión 3D de escritorio más popular en los últimos tiempos es la tecnología FDM, que consiste en la extrusión de un termoplástico a una temperatura alrededor de 200°C por una boquilla. Este material se deposita en láminas sobre una base para construir un objeto capa a capa. A pesar de que esta tecnología aún no puede suplir determinadas características de la impresión 3D industrial, sus aplicaciones son múltiples, destacando entre ellas la planificación quirúrgica mediante la creación de modelos anatómicos específicos del paciente a intervenir [2]. La anatomía del paciente es una información tridimensional que el médico visualiza de forma bidimensional en el monitor de un ordenador, perdiendo en muchas ocasiones detalles o la localización debido a esta limitación. Los avances en visualización 3D han sido importantes, pero en una profesión como la cirugía, el tacto se convierte en un sentido fundamental. La traslación del modelo digital al entorno físico permite al cirujano percibir todos los datos que ofrece el caso,

planificar los abordajes o ensayar la intervención [3]. A su vez, esta información puede ser complementada con guías quirúrgicas a medida [4], elementos desechables fabricados a partir de las imágenes preoperatorias para planificar la cirugía y ensayar los pasos a realizar cuando se lleve a cabo. Adicionalmente, toda esta planificación puede ser usada como herramienta comunicativa con el paciente para mejorar el entendimiento de la patología por parte del mismo.

En este artículo se describe un flujo de trabajo para aplicar la impresión 3D en un entorno clínico, abarcando desde la obtención de imágenes preoperatorias del paciente hasta la llegada de las piezas impresas al quirófano para su uso. Además, se describen ejemplos prácticos provenientes de la experiencia en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón de Madrid.

2. Flujo de trabajo

En este apartado se describen las diferentes etapas del proceso de fabricación de modelos 3D con impresoras 3D de escritorio. Además, se ha añadido a este flujo de trabajo la etapa de esterilización ya que estos modelos impresos pueden ser utilizados en quirófano.

2.1. Obtención del modelo 3D

El primer paso es conseguir el modelo anatómico del paciente a partir del que trabajar, para lo cual se realiza un estudio de imagen, en concreto, una tomografía computarizada (CT, de sus siglas en inglés *computed tomography*). El estudio del paciente se exporta en formato DICOM, el cual puede ser leído por gran parte de los programas de procesamiento de imagen médica existentes. A partir de las imágenes se realiza la reconstrucción 3D de la anatomía del paciente con el programa Horos (<https://www.horosproject.org/>), disponible para MacOSX de forma gratuita. Este software permite realizar una segmentación en función de las estructuras anatómicas que se quieren representar, como son los huesos o el tejido blando. El modelo 3D anatómico (o malla de triángulos) obtenido se exporta en formato .STL (*STereo Lithography*) para su posterior edición.

2.2. Modelado y diseño 3D

A partir de la anatomía contenida en un fichero .STL se pueden realizar múltiples operaciones, como la creación de guías de corte específicas para el paciente, el diseño de moldes para fijar una extremidad en una posición concreta o herramientas específicas diseñadas a demanda por los cirujanos. Con estos objetivos se utiliza software tipo CAD (*Computer-Aided Design*) para diseñar los modelos como, por ejemplo, 123D Design y Meshmixer (Autodesk), ambos de descarga gratuita. Estos programas contienen herramientas que permiten suavizar la superficie del modelo, realizar operaciones booleanas para unir o eliminar distintas geometrías, extraer superficies para generar moldes inversos o elaborar complejos diseños geométricos.

2.3. Impresión 3D

Esta etapa podría dividirse en varios procesos, como son la laminación del modelo .STL, la selección del material,

la calibración de la impresora, la impresión del modelo 3D y, por último, el post-procesado del objeto obtenido.

El primero de estos procesos consiste en convertir el modelo geométrico editado en un lenguaje interpretable por las impresoras. Las impresoras domésticas funcionan con un formato conocido como GCODE, donde mediante instrucciones de máquina se seleccionan diferentes parámetros y las posiciones que tiene que alcanzar el extrusor a lo largo de la impresión para depositar el material que construye la pieza. Este código se genera con un software conocido como laminador, como es Cura 15.04 (Ultimaker). Este programa ofrece una interfaz de usuario que permite elegir diferentes características del proceso de impresión como la velocidad, el relleno del objeto o la construcción automática de soportes. Estos parámetros están estrechamente relacionados con el tipo de material utilizado.

En las impresoras 3D de escritorio se pueden emplear diversos materiales que van desde las poliamidas hasta la fibra de carbono, siendo los más utilizados el acrilonitrilo butadieno estireno (ABS) y el ácido poliláctico (PLA). De estos dos materiales, el ABS presenta unas propiedades adecuadas para las piezas, como son la resistencia a impactos o su facilidad para ser post-procesado mediante lijas o disolventes de fácil acceso, pero su uso en el entorno clínico se ve limitado al no ser biodegradable. Por otra parte, el PLA es un material de origen natural, derivado del maíz o de la caña de azúcar, entre cuyas propiedades destaca que es biodegradable. Además, el PLA ofrece una serie de ventajas durante el proceso de impresión frente al ABS como son un menor consumo energético, ya que su punto de fusión es menor, y que no requiere cama caliente para la adherencia de las primeras capas. Por otra parte, no emite efluvios tóxicos durante la impresión. Su relación calidad-precio es óptima, situándose su coste medio en 17€/kg. Por todos estos motivos, el PLA es el material elegido en este trabajo.

El uso de las impresoras requiere de un calibrado previo, de modo que la base esté nivelada, sin restos de impresiones anteriores y, en algunos casos, con algún compuesto que mejore la adherencia de la pieza impresa a la base, como puede ser laca de fijación. A continuación, tiene lugar la impresión del objeto con impresoras domésticas, por ejemplo, de la marca bq (Witbox 2).

Por último, tras el proceso de impresión, es habitual tener que realizar distintas operaciones, como son la eliminación de los soportes que sostienen las partes en voladizo de las piezas, unir piezas de gran tamaño impresas en varias partes o pulir desperfectos.

2.4. Esterilización

Los modelos 3D impresos que se van a utilizar en quirófano deben ser esterilizados ya que pueden estar en contacto con el paciente. No se puede emplear un proceso de esterilización a alta temperatura como el del autoclave ya que se realiza con vapor de agua a 134°C y las piezas fabricadas en PLA se deformarían. Por este motivo, se utiliza la esterilización mediante óxido de etileno (OE) ya que este proceso se realiza a una temperatura inferior. Se

plantearon dos programas de esterilización mediante OE, el estándar en el que se esterilizan las piezas a 55°C con un período de aireación de 8 horas y otro programa de esterilización a más baja temperatura (37°C) con un período posterior de aireación más largo (entre 12 y 24 horas).

3. Evaluación

Este flujo se ha integrado dentro de la práctica clínica en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón (Madrid). En este centro se ha creado un Laboratorio de Impresión 3D Médica dentro del servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología en el que trabajan tanto médicos como ingenieros. Dispone de varias impresoras 3D de escritorio. En este trabajo se presentan los casos realizados durante el último año.

Con el objetivo de comprobar si las piezas impresas se correspondían con los modelos 3D diseñados, se evaluó el error de impresión en una plantilla de deformación cuyo diseño es similar al de las plantillas de calibración para impresión 3D que se pueden encontrar en repositorios públicos. Esta pieza incluía una base alargada que puede generar *warping* (curvatura en la primera capa de la pieza por una mala adhesión a la base), voladizos, estructuras verticales delgadas y regiones con distinto grosor (Figura 1). Se comparó el modelo 3D diseñado (*gold standard*) con el modelo 3D obtenido a partir de un CT de cada pieza impresa (grosor de corte de 0.5 mm). Esta comparación punto a punto se realizó después de registrar los modelos 3D con la aplicación 3D Slicer (<https://www.slicer.org>).

Adicionalmente, se comprobó si alguno de los programas de esterilización con OE junto con la impresión en 3D producía alguna variación respecto al modelo 3D diseñado. Para el programa de esterilización a 55°C se utilizaron la plantilla de deformación con la que se calculó el error de impresión y un molde para una cirugía de resección tumoral. Para el programa de esterilización a 37°C se emplearon un modelo anatómico impreso en varias partes de una pelvis con un tumor adherido (angiosarcoma) y la guía quirúrgica de corte correspondiente a este caso. Se comparó el modelo 3D diseñado (*gold standard*) con el modelo 3D obtenido a partir de un CT de cada pieza impresa esterilizada (grosor de corte de 0.5 mm). Esta evaluación punto a punto también se realizó después de registrar los modelos 3D correspondientes.

4. Resultados

El flujo de trabajo con impresión 3D de escritorio descrito en este trabajo se llevó a cabo en 20 cirugías del Hospital General Universitario Gregorio Marañón durante el último año. La Tabla 1 presenta un resumen de las aplicaciones dadas a las piezas impresas y qué servicios del hospital solicitaron el servicio de impresión 3D. La Figura 1 muestra varios ejemplos de piezas impresas. La mayoría de las impresiones se realizaron en el servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología donde se utilizaron frecuentemente en cirugías de osteotomía tibial para crear guías de corte quirúrgicas específicas para el paciente o

modelos anatómicos para el preconformado de placas. El servicio de Cardiología solicitó el servicio de impresión 3D para crear modelos anatómicos de deformaciones poco comunes para utilizarlas en cirugías cardíacas complejas y a nivel educativo.

Aplicación	Servicio (núm. de casos)
Modelo anatómico	Oncología (7), Cirugía Ortopédica y Traumatología (11), Cardiología (2)
Molde para cirugía	Oncología (2)
Guías de corte quirúrgicas	Oncología (7), Cirugía Ortopédica y Traumatología (7)
Comunicación cirujano-paciente	Oncología (3), Cirugía Ortopédica y Traumatología (5)

Tabla 1. Resumen de los casos realizados en el Hospital General Universitario Gregorio Marañón siguiendo el flujo de trabajo descrito en este trabajo.

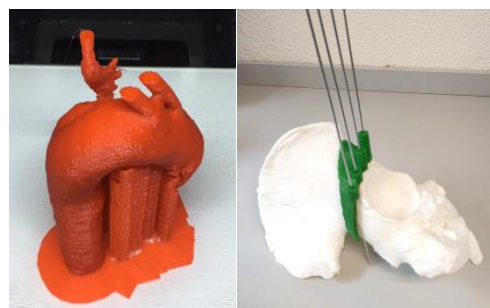


Figura 1. Ejemplos de piezas impresas. Modelo anatómico de aorta (rojo) y modelo anatómico de pelvis (blanco) con guía de corte quirúrgica (verde).

La Figura 2 muestra el error de impresión obtenido con la plantilla de deformación. El error entre la pieza impresa y el modelo 3D diseñado es mayor en las uniones de las distintas formas geométricas con la base alargada. Los resultados fueron 0.54 ± 0.80 mm (media \pm desviación estándar).

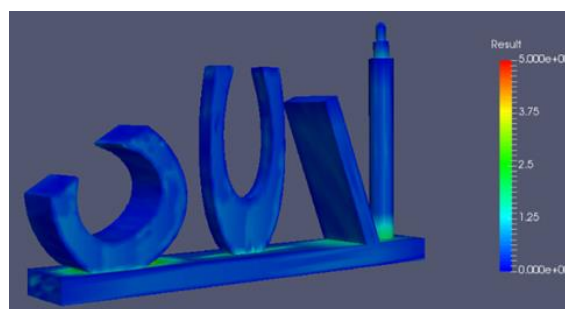


Figura 2. Error de impresión superpuesto al modelo 3D diseñado (plantilla de deformación). Valores en mm.

La Figura 3 y la Figura 4 muestran el error obtenido tras el proceso de esterilización con el programa de esterilización a 55°C y a 37°C, respectivamente. Como puede observarse en la Figura 3, la plantilla de deformación esterilizada con OE a 55°C estaba deformada. En la Tabla 2 se describen los resultados obtenidos. Los errores de las piezas esterilizadas a 55°C eran mayores que con la esterilización a 37°C. Los errores

medios estaban en torno al grosor de corte con el segundo programa de esterilización.

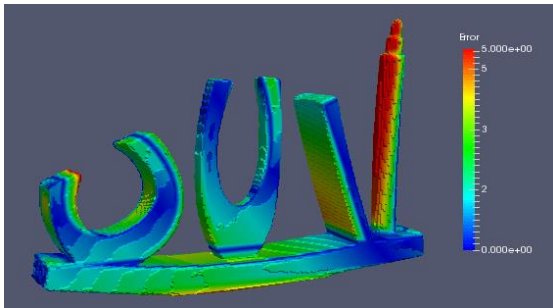


Figura 3. Error tras el proceso de esterilización a 55°C superpuesto al modelo 3D de la pieza esterilizada. Valor máximo de la escala 5 mm.

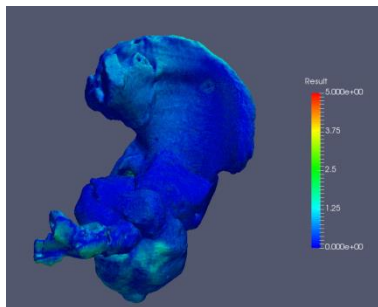


Figura 4. Error tras el proceso de esterilización a 37°C superpuesto al modelo 3D de la pieza esterilizada (pelvis con tumor adherido). Valor máximo de la escala 5 mm.

Modelo	Temp. de esterilización	Media (mm)	Desviación estándar (mm)	Máx. (mm)
Plantilla de deformación	55 °C	1.86	2.29	5.80
Molde mano	55 °C	1.51	2.32	16.58
Pelvis	37 °C	0.48	0.50	3.44
Guía pelvis	37 °C	0.39	0.31	2.51

Tabla 2. Errores para los modelos evaluados tras el proceso de esterilización.

5. Discusión

Se ha integrado satisfactoriamente el flujo de trabajo descrito en este estudio que incorpora la impresión 3D de escritorio a un entorno clínico. Actualmente, este tipo de impresión complementa a la industria tradicional y permite realizar proyectos técnicamente más complejos en el propio centro hospitalario gracias a la estrecha colaboración entre médicos e ingenieros, lo que supone una mejora sustancial respecto al modelo clientelar tradicional.

El proceso de esterilización con OE a 37°C era adecuado para esterilizar las piezas impresas con PLA. El programa estándar a 55°C no era viable (deformaba las piezas) ya que la temperatura de transición vítrea de este material se sitúa alrededor de 50-60°C. El uso de nuevos materiales en las impresoras 3D de escritorio augura nuevas aplicaciones, conforme el metal o la fibra de vidrio sean más accesibles económicamente. Además sería posible emplear procesos de esterilización a mayor temperatura.

Existen impresoras 3D industriales con errores de impresión inferiores al obtenido en este estudio con una impresora 3D de escritorio. Sin embargo, este error no es crítico para las aplicaciones planteadas: planificación quirúrgica, herramienta para mejorar la comunicación médico-paciente, educativa con la creación de modelos de patologías poco comunes, etc. El uso de guías de corte específicas para cada paciente supone una alternativa al proceso habitual en el que se somete al paciente y al equipo médico a una elevada dosis de rayos X. Estas piezas impresas permiten reproducir la dirección de corte planificada durante la cirugía. Sin embargo, no suministran información de profundidad. Este inconveniente se podría solucionar mediante el uso combinado con sistemas de navegación [5]. Además se podrían imprimir herramientas a medida para la navegación: punteros, acoples para distintos tipos de sensores y así poder seguir el movimiento de un bisturí respecto del paciente durante una intervención. Nuestra experiencia demuestra la capacidad de la tecnología de impresión 3D de escritorio para facilitar el flujo de trabajo clínico en un entorno de trabajo multidisciplinar, abriendo nuevas posibilidades que esperamos explorar a corto plazo.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por los proyectos TEC2013-48251-C2-1-R, DTS14/00192, PI15/02121 (Ministerio de Economía y Competitividad, ISCIII); EU FP7 IRSES TAHITI (#269300) (Comisión Europea); y los fondos FEDER. Por último, agradecer a Gonzalo Parrilla y a Rafael Moreta-Martínez su contribución en este estudio.

Referencias

- [1] Malik HH, Darwood ARJ, Shaunak S, Kulatilake P, El-Hilly AA, Mulki O, Baskaradas A. Three-dimensional printing in surgery: a review of current surgical applications. *Journal of Surgical Research*, vol 199, sup 2, 2015, pp 512–22 (ISSN: 1095-8673).
- [2] Eltorai AEM, Nguyen E, Daniels AH. Three-dimensional printing in orthopedic surgery. *Orthopedics*, vol 38, sup 11, 2015, pp 684–7 (ISSN: 1938-2367).
- [3] Chana-Rodríguez F, Pérez Mañanes R, Rojo-Manaute J, Gil P, Martínez-Gómiz JM, Vaquero-Martín J. 3D surgical printing and pre contoured plates for acetabular fractures *Injury* [article in press] (ISSN: 1879-0267).
- [4] Perez-Mañanes R, Arnal Burró J, Rojo Manaute J, Chana Rodríguez F, Vaquero Martín J. 3D surgical printing cutting guides for open-wedge high tibial osteotomy: Do it yourself. *Journal of Knee Surgery*, 2016 (ISSN: 1938-2480).
- [5] García-Vázquez V, Rodríguez-Lozano G, Pérez-Mañanes R, Calvo JA, García-Mato D, Cuervo-Dehesa M, Desco M, Pascau J, Vaquero J. Desktop 3D printing in medicine to improve surgical navigation in acral tumors, *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery*, 2016 vol 11, sup 1, pp S262-3 (ISSN: 1861-6429).

Navegación quirúrgica de la Neuromodulación de las Raíces Sacras

R. López-Velazco¹, D. García-Mato¹, G. Rodríguez-Lozano¹, D. García-Olmo³, M. Desco^{1,2}, M. Ortega López³, J. Pascau^{1,2}

¹ Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

² Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, Madrid, España, {rlopez, dgmato, jpascau}@hggm.es

³ Departamento de Cirugía General, Hospital Fundación Jiménez Díaz, Madrid, España, damian.garcia@uam.es, mario.ortega@quironsalud.es

Resumen

La neuromodulación de raíces sacras (NRS) es un procedimiento terapéutico mediante el cual se inserta un electrodo cerca del nervio sacro que lo estimula para tratar las condiciones de incontinencia fecal y urinaria. El principal reto en esta intervención por parte del cirujano es la correcta inserción de la aguja para colocar el electrodo a través del foramen S3, dado al reducido tamaño de esta estructura del sacro. Esta intervención se valida hoy en día a través de imágenes de fluoroscopia radiológica. Este proceso de validación es motivo del aumento de tiempo quirúrgico, con las consiguientes molestias y riesgos para el paciente. Además, cada imagen de control conlleva una dosis de radiación que afecta tanto al paciente como al personal que se encuentra en la sala quirúrgica. En este estudio se presenta un sistema de navegación orientado al uso clínico, con el objetivo de facilitar el guiado de la aguja espinal al foramen S3 y así mejorar la precisión del posicionamiento del electrodo. Se presenta además la validación del sistema de navegación propuesto sobre un maniquí antropomórfico en el que distintos operadores insertaron la aguja guiados por el sistema. Los resultados muestran la viabilidad de esta solución para posicionar con precisión el electrodo de estimulación y su capacidad para disminuir considerablemente el número de intentos necesario para introducir la aguja con éxito en el foramen, lo que reducirá el dolor y malestar del paciente.

1. Introducción

La Neuromodulación de Raíces Sacras (NRS) es hoy una opción terapéutica contrastada para tratamiento de la incontinencia anal. Este procedimiento requiere implantar quirúrgicamente un electrodo en el foramen sacro S3 (**Figura 1**) que realice una modulación de los nervios sacros. El electrodo se conecta a un generador implantado en tejido celular subcutáneo y mediante estímulos eléctricos de baja frecuencia activa las áreas cerebrales encargadas de coordinar todas las estructuras implicadas en la defecación. De esta forma los centros corticales consiguen regular el proceso de la continencia.

Desde que en 1995 Matzel [1] utilizara por primera vez este método, han sido muchas las mejoras técnicas y la continua búsqueda por optimizar el procedimiento para aumentar la eficacia de la estimulación.

Para localizar el foramen S3 del sacro y los nervios que se desea estimular se utiliza una aguja espinal. El correcto

posicionamiento de la aguja en el foramen sacro supone un reto para el cirujano debido al reducido tamaño de esta estructura (**Figura 2**).

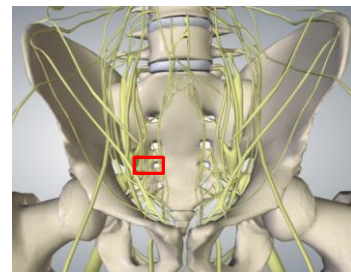


Figura 1. Foramen S3 del sacro

La validación de este posicionamiento se realiza hoy en día mediante fluoroscopia radiológica. Esta validación es necesaria pero alarga considerablemente el tiempo quirúrgico, con las consiguientes molestias y riesgos para el paciente. Además, cada imagen de control conlleva una dosis de radiación tanto al paciente como al cirujano.

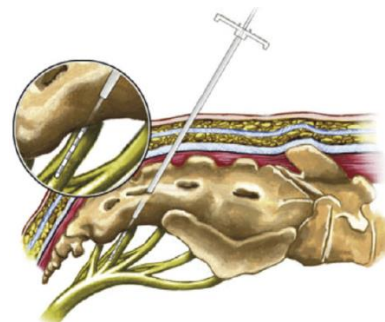


Figura 2. Inserción de la aguja en el foramen sacro

Existen actualmente varias propuestas para mejorar el procedimiento de la NRS. Medtronic propone un guiado a través de imagen ultrasonido en tiempo real y por lo tanto libre de radiación. Sin embargo, las imágenes son difíciles de interpretar y su profundidad es limitada. Por otro lado, Youngjin Na et al. [2] propusieron una validación para la inserción de la aguja asistida por un sistema de posicionamiento electromagnético. Para validar la

precisión no usaron un maniquí antropomórfico y su sistema de navegación no estaba diseñado con orientación al uso clínico.

Para superar las limitaciones reseñadas, en este trabajo se presenta un sistema de navegación orientado al uso clínico desarrollado con el objetivo de facilitar el guiado de la aguja espinal durante la intervención quirúrgica de la NRS con suficiente precisión en el posicionamiento del electrodo.

El sistema está adaptado específicamente para esta aplicación, integrando un sistema de posicionamiento electromagnético y una imagen de Tomografía Axial Computarizada (TAC) preoperatoria del paciente. Se presenta además la validación del sistema de navegación propuesto sobre un maniquí antropomórfico por parte de distintos operadores.

2. Materiales

2.1. Sistema de Posicionamiento

Para localizar las herramientas quirúrgicas y al paciente en el escenario de tratamiento se empleó un sistema de posicionamiento electromagnético 3D Guidance trackSTAR (Figura 3) y 3 sensores de 6 grados de libertad (DOF) modelo 800 (20 mm x 8 mm x 8 mm). Una alternativa sería un sistema de posicionamiento óptico, que emplea cámaras para localizar esferas reflectantes. Aunque es algo más preciso que el magnético, requiere línea visual directa entre las cámaras y las herramientas, lo que dificulta su uso en un procedimiento quirúrgico de NRS.



Figura 3. Sistema de posicionamiento electromagnético

Se diseñaron tres piezas adaptadas a los sensores del sistema de posicionamiento (Figura 4). Estas piezas se imprimieron en el hospital usando una impresora 3D (Witbox-2, BQ, España) que utiliza ácido polilactico (PLA), un material no tóxico y de bajo coste que se puede esterilizar con óxido de etileno. Los diseños fueron los siguientes:

- Una referencia para el paciente, que se puede fijar con tiras adhesivas, de forma que un movimiento rígido de la posición real del paciente no afecte a la navegación.
- Una sujeción para la aguja espinal que se utiliza en el procedimiento de la NRS.
- Un puntero que se utilizará para hacer el registro del paciente con su modelo tridimensional obtenido a partir de la imagen preoperatoria.

2.2. Software

La aplicación de código abierto PLUS [3] fue empleada para la adquisición y el envío de datos de posicionamiento de cada herramienta a través del protocolo OpenIGTLink al software cliente 3D Slicer [4].

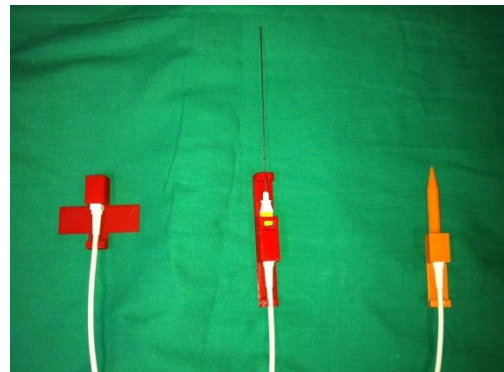


Figura 4. Herramientas de navegación. De izq. A dcha.: referencia del paciente, sujeción de la aguja y puntero.

La aplicación de navegación se ha desarrollado sobre 3D Slicer, una plataforma software para el análisis y visualización de imágenes médicas que dispone una extensión tratamientos guiados por imagen en la denominada SlicerIGT [5]. Nuestra solución es un módulo específico llamado SacralNavigation para facilitar la navegación de la aguja en procedimientos de NRS (Figura 5). Los requisitos del módulo se definieron en colaboración con el cirujano especialista.

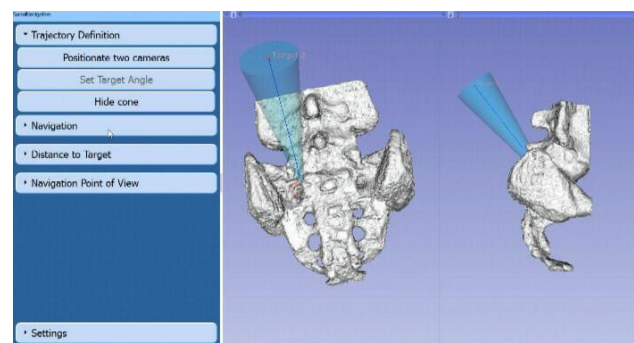


Figura 5. Interfaz del módulo SacralNavigation

2.3. Maniquí de validación

Se construyó un maniquí de validación basado en la anatomía de un paciente real. Se obtuvo un modelo tridimensional del sacro a partir de la imagen TAC preoperatoria (Figura 6) y se imprimió usando una impresora 3D. Sobre el modelo impreso se fijaron tres marcadores alrededor del foramen S3 a modo de referencia para la posterior validación de la precisión del sistema. Finalmente esta estructura se cubrió con gelatina saturada para simular el tejido blando. (Figura 7).

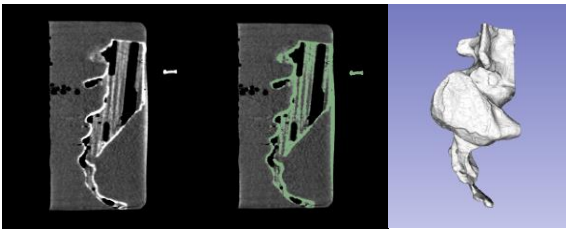


Figura 6. Extracción del modelo virtual del sacro mediante segmentación de nivel de la imagen TAC.

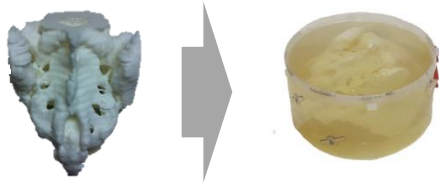


Figura 7. Maniquí utilizado para la evaluación.

3. Métodos

3.1. Flujo de trabajo

Los pasos a seguir para el uso del sistema de navegación durante la NRS se detallan a continuación:

- 1) **Colocación de marcadores para registro.** Se adhieren un total de 4 marcadores superficiales a la piel del paciente alrededor de la zona donde realizará la inserción de la aguja. Estos marcadores serán visibles en la imagen TAC preoperatoria y se usarán para el registro del paciente con su modelo anatómico virtual.
- 2) **Adquisición de TAC del paciente.** Se adquiere una imagen TAC del paciente en una posición similar a la que tendrá durante la intervención.
- 3) **Adecuación del entorno de trabajo.** Se libera el entorno de la presencia de materiales ferromagnéticos que pueden afectar al campo magnético generado por el sistema de posicionamiento.
- 4) **Calibración de herramientas.** Se calibran la aguja y el puntero pivotando cada herramienta sobre su punta [5], con el fin de conocer la posición exacta de la punta respecto al sensor del sistema de posicionamiento.
- 5) **Colocación de referencia en paciente.** Se fija el sensor de referencia al paciente en una posición estable.
- 6) **Registro.** Se realiza un registro rígido entre el paciente y su modelo anatómico virtual utilizando los marcadores superficiales adheridos al paciente y la posición de los mismos en la imagen preoperatoria.
- 7) **Navegación.** Se guía la inserción de la aguja mediante la aplicación desarrollada. Algunas de

las funcionalidades de dicha aplicación incluyen la definición de punto objetivo y de la trayectoria óptima de inserción, así como el cálculo de la distancia de la punta de la aguja al punto objetivo en tiempo real.

Este flujo de trabajo fue evaluado por un cirujano especialista en el ámbito de la NRS que realizó diversas inserciones asistidas por el sistema de navegación implementado. (Figura 8).



Figura 8. Cirujano especialista probando el sistema.

3.2. Evaluación de la precisión del sistema

La precisión del sistema de navegación se evaluó mediante el uso de los tres marcadores fijados en el maniquí. Se realizaron 5 inserciones de la aguja en el maniquí por 2 usuarios distintos sin experiencia previa en NRS con ayuda del sistema de navegación implementado, adquiriendo en todas ellas una imagen TAC tras la inserción de la aguja.

Para cada inserción se calculó la distancia entre la aguja y el punto medio de los marcadores en el plano definido por la posición de estos (Figura 9). La distancia medida en el sistema de navegación se comparó con la distancia real obtenida a partir de la imagen TAC realizada tras cada inserción (gold-standard). El error del sistema fue calculado como la diferencia absoluta entre ambas distancias.

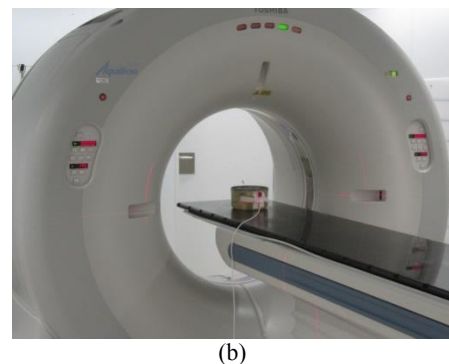
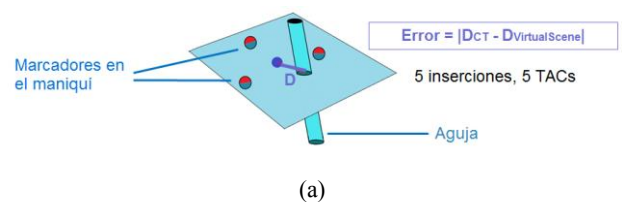


Figura 9. (a) Medida de error de precisión. (b) Obtención del TAC posterior a la inserción para la validación.

4. Resultados

A continuación se presentan los resultados obtenidos en la evaluación de la precisión del sistema durante las cinco inserciones realizadas:

Número de inserción	Distancia en escena virtual	Distancia en TAC	Error
1	5.31 mm	3.48 mm	1.83 mm
2	5.5 mm	7.0 mm	1.5 mm
3	1.49 mm	3.74 mm	2.25 mm
4	6.17 mm	2.84 mm	3.33 mm
5	8.74 mm	5.97 mm	2.77 mm

Media total del error = 2.33 mm

El tiempo medio de inserción y acierto por parte de ambos usuarios fue de 5 minutos y medio.

5. Discusión y conclusiones

En este estudio se ha validado un nuevo método para guiar la aguja en un procedimiento de neuromodulación de raíces sacras y así facilitar y mejorar la precisión en la colocación del electrodo en dicha intervención. La solución propuesta se basa en el uso de un sistema de posicionamiento electromagnético y una imagen TAC preoperatoria del paciente.

A diferencia de la metodología de validación propuesta por Youngjin Na et al. [2], la validación del sistema de guiado realizada en este trabajo ha sido orientada al uso clínico y realizada usando un maniquí antropomórfico. El error en la evaluación de la precisión del sistema para las 5 inserciones realizadas fue menor a 3.5 mm para todos los casos, con un error medio de 2.33 mm. Estos valores representan la combinación de diversas fuentes de error tales como la calibración de las herramientas, el registro del paciente y la selección manual de los marcadores de referencia. Esta evaluación resulta realista ya que contempla los pasos que se llevan a cabo en el procedimiento quirúrgico propuesto.

El flujo de trabajo propuesto se validó también de forma subjetiva por parte de varios usuarios. Durante la validación de la precisión dos usuarios distintos, sin experiencia previa en NRS, realizaron con éxito 5 inserciones guiados por el sistema exclusivamente. Posteriormente un cirujano experto en NRS realizó varias inserciones en el maniquí de validación guiado por el sistema propuesto. Su impresión fue positiva, validando la solución completa (sistema de navegación, herramientas de guiado, software y flujo de trabajo) como adecuada para realizar el proceso en pacientes reales.

Este experimento ha demostrado la viabilidad de este sistema para asistir en el posicionamiento del electrodo de estimulación, y la capacidad de este para disminuir considerablemente el número de intentos necesario para

posicionar la aguja con éxito, lo que reducirá el malestar y dolor del paciente.

Esta nueva propuesta servirá también para facilitar el proceso de inserción de la aguja y mejorar la curva de aprendizaje de los especialistas profesionales en NRS.

Los resultados de este estudio preliminar han permitido solicitar un protocolo de ensayo clínico al comité ético de una institución sanitaria que ha sido aprobado positivamente. En los próximos meses se espera realizar un primer estudio piloto en pacientes que permita validar la utilidad clínica de esta propuesta.

Agradecimientos

Este proyecto está financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad y el Instituto de Salud Carlos III (proyectos TEC2013-48251-C2-1-R, DTS14/00192, PI15/02121) y fondos FEDER.

Referencias

- [1] Matzel, KE, Stadelmaier, U, Hohenfellner, M, Gall, FP 1995 *Electrical stimulation of sacral spinal nerves for treatment of faecal incontinence* Lancet34611247
- [2] Youngjin Na, Jong-Mo Seo, Jung Kim. Electromagnetic Tracking of Needle Intervention for Sacral Nerve Stimulation Using the Image-Guided Surgery Toolkit (IGSTK). *International Journal of Precision Engineering and Manufacturing*, vol. 14, no. 11, pp. 2015-2020.
- [3] A. Lasso, T. Heter, A. Rankin, C. Pinter, T. Ungi, G. Fichtinger, *Plus: open-source toolkit for ultrasoundguided intervention systems*, IEEE T-BME, vol. 61, no. 10, pp. 2527-2537, 2014.
- [4] A. Fedorov, R. Beichel, J. Kalpathy-Cramer, J. Finet, J. C. Fillion-Robin, *3D Slicer as an image computing platform for the quantitative imaging network*, Magn Reson Imag, vol. 30, no. 9, 2012, pp. 1323-1341.
- [5] Página web del kit de herramientas para intervenciones guiadas por imagen, extensión del software 3D Slicer. <http://www.slicer.org/wp/>

Integración de escáner de superficie con un sistema de posicionamiento electromagnético para el guiado en cirugía de cáncer de mama

M. García-Sevilla¹, R. López-Velazco¹, S. Lizarraga², M. Herrero-Conde³, M. Desco^{1,4}, M.J. Ledesma-Carbayo^{5,6}, J. Pascau^{1,4}

¹ Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

² Servicio de Obstetricia y Ginecología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España

³ Hospital de Madrid Sanchinarro, Madrid, España

⁴ Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, Madrid, España

⁵ Biomedical Image Technologies, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid España

⁶ CIBER-BBN, Madrid, España

Resumen

El procedimiento actual para cirugías de cáncer de mama incluye en la mayoría de los casos el empleo de un sistema aguja-arpón como herramienta de guiado durante la intervención. Aunque su uso está ampliamente extendido, presenta ciertas desventajas como el aumento en coste y tiempo, la incomodidad para el paciente o los posibles resultados estéticos. Por ello existen diferentes alternativas, entre las cuales se encuentra el uso de imágenes preoperatorias como herramienta de apoyo durante la cirugía. Sin embargo, su adquisición se lleva a cabo con el paciente en diferentes posiciones a la encontrada en la intervención, dificultando su interpretación. En este trabajo se presenta un procedimiento para la adquisición de la superficie del paciente durante la cirugía a partir de un escáner de luz estructurada combinado con el uso de un sistema de posicionamiento electromagnético para la localización del tumor. La información proporcionada por ambas técnicas se fusiona mediante un registro, empleando para ello unos marcadores diseñados específicamente para ser localizables por ambas. Tras una evaluación de la precisión, los resultados demuestran la viabilidad del procedimiento con errores inferiores a 1 mm.

1. Introducción

Debido al crecimiento de la población y a un aumento de la longevidad, el cáncer es cada vez más habitual, siendo la principal causa de mortalidad en la actualidad en la mayoría de los países. De entre los diferentes tipos de cáncer, el de mama es el más frecuente en mujeres según datos mundiales, constituyendo un 25% de los casos, y el de mayor mortalidad, con una incidencia del 15% [1].

Como consecuencia de su alta incidencia, en los países más desarrollados se llevan a cabo exámenes de cribado periódicamente con el fin de facilitar su detección en un estadio temprano, previo a su diseminación o a la aparición de síntomas, ya que así aumentan las posibilidades de curación. Esta detección precoz resulta en una previsión de supervivencia relativamente favorable. No obstante, el procedimiento quirúrgico de resección tumoral es susceptible de mejora, puesto que se

encuentran márgenes patológicos positivos tras la resección entre un 30 y un 50% de las veces [2].

El procedimiento habitual en este tipo de cirugías incluye el empleo de un sistema aguja-arpón, introducido previamente a la intervención y destinado a indicar la posición del tumor y servir de guía para el cirujano. Este método, aunque eficaz, cuenta con ciertos inconvenientes incluyendo su coste, la duración del procedimiento y sobre todo una mayor molestia para el paciente. Además el recorrido marcado por el arpón a menudo no es el óptimo desde el punto de vista quirúrgico, pudiendo existir otras opciones con resultados más estéticos.

Por estos motivos se han sugerido alternativas a este procedimiento que incluyen por ejemplo el uso de ultrasonidos (US) durante la intervención [3] o la combinación de ultrasonidos con un sistema de posicionamiento electromagnético [4]. Estos métodos son precisos y económicos. Sin embargo, no sirven para todos los casos ya que determinados tumores no resultan visibles en las ecografías. Por otro lado se ha propuesto el uso de imágenes multimodales, combinando mamografía, ecografía o imagen de resonancia magnética (RM) para facilitar el proceso de guiado durante la intervención [5]. No obstante, esta combinación presenta cierta dificultad, ya que cada modalidad es adquirida con el paciente en diferente posición. Además, ninguna de estas posiciones coincide con la de la cirugía. Esto dificulta no solo el proceso de combinar las imágenes, sino también la interpretación por parte del cirujano, quien debe realizar mentalmente una transformación de la posición de la mama en las imágenes preoperatorias a la encontrada en el quirófano en el momento de la intervención.

Este último problema inspiró el desarrollo de un método para calcular dicha transformación por parte de la Universidad Politécnica de Madrid en 2015 en colaboración con el Hospital General Universitario Gregorio Marañón [6]. Dicho método obtiene la superficie de la mama y del tumor a partir de la imagen obtenida por resonancia magnética y aplica una

deformación laplaciana de manera que la superficie resultante se asemeje a la del paciente en la cirugía. Con el fin de evaluar su precisión, se llevó a cabo un estudio con 6 pacientes que disponían de imagen por RM y TAC (tomografía computarizada). La superficie segmentada del TAC se empleó como referencia del resultado esperado. Una vez aplicada la deformación y estimada la posición final del tumor, dicha estimación se comparó con la posición del centroide del tumor en el TAC, obteniendo valores de error menores a 5 mm en la mayoría de los casos.

Los prometedores resultados de este estudio han llevado a plantear una validación del método implementado con datos más realistas acerca de la situación encontrada en el quirófano en lugar de emplear imágenes preoperatorias. En este trabajo se propone un procedimiento para dicha validación basado en el uso combinado de un escáner de luz estructurada y un sistema de posicionamiento electromagnético. El primero permite obtener la superficie real de la mama presente en el momento de la intervención. El segundo, llevar a cabo un seguimiento de la posición de la aguja. A partir de este seguimiento se puede extraer la posición de la punta de la aguja una vez insertada en el tumor, localizando así el mismo en el espacio. No obstante, surge el problema de combinar la información adquirida a partir del escáner con la del sistema de posicionamiento electromagnético, al encontrarse en diferentes sistemas de referencia. Para ello en este trabajo se presenta un procedimiento por el cual se lleva a cabo un registro entre ambos a partir del uso de unos marcadores especialmente diseñados para ser localizados por ambos sistemas. Esto permite visualizar la información proporcionada por ambas técnicas conjuntamente. A continuación se explica en mayor detalle todo el procedimiento desarrollado y se presentan los resultados obtenidos tras una evaluación de la precisión del sistema.

2. Materiales y Métodos

Para la adquisición de la superficie se empleó el escáner de luz estructurada Artec Eva. Este presenta un tamaño reducido, permitiendo sostenerlo con la mano y realizar escaneos con información de textura de forma rápida, precisa e inocua de objetos de tamaño medio. Obtiene una resolución de hasta 0.5 mm con una precisión de punto de hasta 0.1 mm. Trabaja a 16 fps con un campo de trabajo desde 0.4 a 1 m de distancia y el área de escaneado máxima es de 536×371 mm (alto x ancho) [7]. Tras realizar el escáner es necesario un procesamiento, para lo cual se usa el software Artec Studio 11 proporcionado por los fabricantes.

El sistema de posicionamiento electromagnético utilizado fue el 3D Guidance Track Star, que dispone de hasta cuatro sensores de tamaño 20 mm x 8 mm x 8 mm. Estos sensores pueden fijarse en diferentes objetos para llevar a cabo un seguimiento de los mismos por separado. Para realizar este seguimiento se empleó el software de manipulación y visualización de imágenes médicas 3D Slicer, que también se utilizó para la calibración de las herramientas, la realización de transformadas entre los

diferentes sistemas de referencia y la adquisición de coordenadas espaciales.

Por último, se empleó la impresora 3D Witbox 2 de BQ para el diseño e impresión en PLA (ácido poliláctico) de dos piezas, las cuales se muestran en la Figura 1. Una de las piezas consiste en un acople para la aguja que permite introducir un sensor del sistema de posicionamiento electromagnético. Esto posibilita la navegación de la aguja de forma precisa. La otra se trata de una plataforma para la evaluación de la precisión del sistema. La plataforma consta de una cavidad en el lateral para insertar un sensor, 11 puntos de control repartidos por la plataforma donde introducir la aguja y 6 cavidades. En estas cavidades se pueden colocar los marcadores, que consisten en tres prismas de colores, también impresos en 3D. La plataforma se diseñó con 6 cavidades (numeradas tal y como muestra la Figura 1) con el fin de analizar diferentes posiciones para los marcadores y así medir cómo la distribución de los mismos afecta a la precisión del sistema. Esto sirvió no sólo para medir el error introducido por el registro, sino también para llevar a cabo un diseño de la pieza final a emplear en el procedimiento que fuese lo más compacta posible pero que a su vez proporcionase valores altos de precisión.

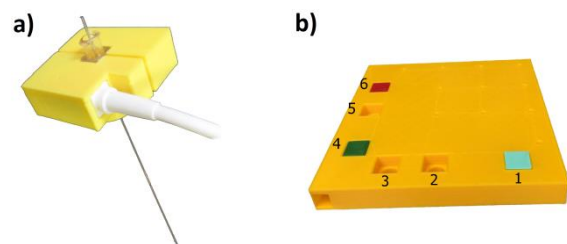


Figura 1. a) acople para la fijación de un sensor en la aguja.
b) plataforma para la evaluación de precisión del sistema.

2.1. Evaluación

Con el fin de evaluar la precisión del procedimiento propuesto se empleó la plataforma descrita en la sección anterior. La validación consiste en adquirir las posiciones de los puntos de control mediante el navegador electromagnético, escanear la plataforma y, una vez hecho el registro de ambos sistemas, comparar la posición anotada de dichos puntos con la real (extraída del diseño de la pieza) obteniendo así una medida de error. Los pasos a seguir para la evaluación fueron los siguientes:

1. Colocación de los marcadores: debido a que la plataforma presenta 6 cavidades y se quieren emplear únicamente tres marcadores, el número de combinaciones posibles teniendo en cuenta que el orden de los mismos es irrelevante es 20. Por ello, se realizaron 20 pruebas, correspondientes a las combinaciones posibles de marcadores.
2. Escáner: para cada combinación de marcadores se realizó un escáner y se procesó con el software Artec Studio 11.
3. Anotación de los marcadores: teniendo un sensor de referencia insertado en la plataforma y otro acoplado a la aguja, se anotó cada posición definida por los marcadores situando la aguja en el centro de los

mismos y empleando el software 3D Slicer para recoger los puntos. Previamente se calibró la aguja con el fin de obtener la posición de la punta respecto al sensor y así recoger las coordenadas de los puntos con la misma.

4. Anotación de los puntos de control: por cada punto de control presente en la plataforma se insertó la aguja y se recogió la posición marcada por la punta siguiendo el mismo procedimiento que en el paso anterior. Estos puntos se anotaron en el mismo sistema de referencia que los marcadores.
5. Extracción de los marcadores a partir del escáner: cada escáner adquirido se cargó en 3D Slicer y se extrajo la posición de los marcadores. Para ello se empleó un módulo del software implementado específicamente para este trabajo, en el cual la nube de puntos es procesada con el fin de segmentar los marcadores según el color. De esta manera se puede obtener como posición del marcador el punto medio de los puntos seleccionados en la segmentación para cada uno.
6. Registro de marcadores: una vez extraída de la superficie la posición de los marcadores, se llevó a cabo el registro con las posiciones anotadas a partir del navegador electromagnético. La transformación obtenida con el registro se aplicó a los puntos recogidos para los puntos de control, encontrándose así finalmente la información del escáner y del navegador en el mismo sistema de referencia.
7. Comparación con valores reales: ya que la posición real de los marcadores y los puntos de control es conocida, se introdujeron estos puntos en 3D Slicer. Los puntos reales de los marcadores se registraron con los obtenidos por el escáner para cada prueba y se aplicó la transformación calculada a los puntos de control reales. Estando ya por tanto todos los datos en el mismo espacio, se comparó la posición de los puntos de control reales con los obtenidos a partir del navegador. Así, se obtuvo para cada caso un valor de distancia o error por punto, denominado *Target Registration Error* (TRE) y una medida del error medio (TRE_{EM-R}).

Además de los errores en el cálculo de los puntos, se anotaron los errores de cada marcador en el proceso de registro, cuyo error se denomina *Fiducial Registration Error* (FRE). Es decir, se calculó el error al registrar los marcadores del escáner con los reales (FRE_{S-R}) y el error al registrar los puntos del navegador electromagnético con el escáner (FRE_{EM-S}).

3. Resultados

Tras las pruebas realizadas con la plataforma se obtuvieron los siguientes resultados para cada caso:

Caso	Marcadores	FRE_{S-R}	FRE_{EM-S}	TRE_{EM-R}
1	1 2 3	0.57	0.47	13.30
2	1 2 4	0.23	0.52	0.85
3	1 2 5	0.21	0.50	0.72
4	1 2 6	0.16	0.67	0.56

5	1 3 4	0.22	0.21	1.50
6	1 3 5	0.16	0.49	0.94
7	1 3 6	0.29	0.40	0.76
8	1 4 5	0.16	0.24	0.74
9	1 4 6	0.15	0.39	0.62
10	1 5 6	0.20	0.37	0.63
11	2 3 4	0.36	0.54	1.89
12	2 3 5	0.30	0.54	0.98
13	2 3 6	0.37	0.68	0.78
14	2 4 5	0.23	0.59	0.64
15	2 4 6	0.22	0.71	0.59
16	2 5 6	0.23	0.67	0.61
17	3 4 5	0.25	0.16	0.98
18	3 4 6	0.30	0.30	0.92
19	3 5 6	0.33	0.33	1.12
20	4 5 6	1.05	0.59	34.82

Tabla 1. Errores de registro para cada caso evaluado.

Es interesante a su vez analizar cómo varía el error de registro en los puntos (TRE_{EM-R}) en función de su distribución y de la combinación de marcadores elegida. A continuación se muestran en la Figura 2 los 6 mejores casos. Los puntos rojos de la imagen representan la posición de los marcadores y los azules la de los puntos evaluados. El valor en el eje z representa el error en dicho punto. Las unidades de los ejes se encuentran en mm.

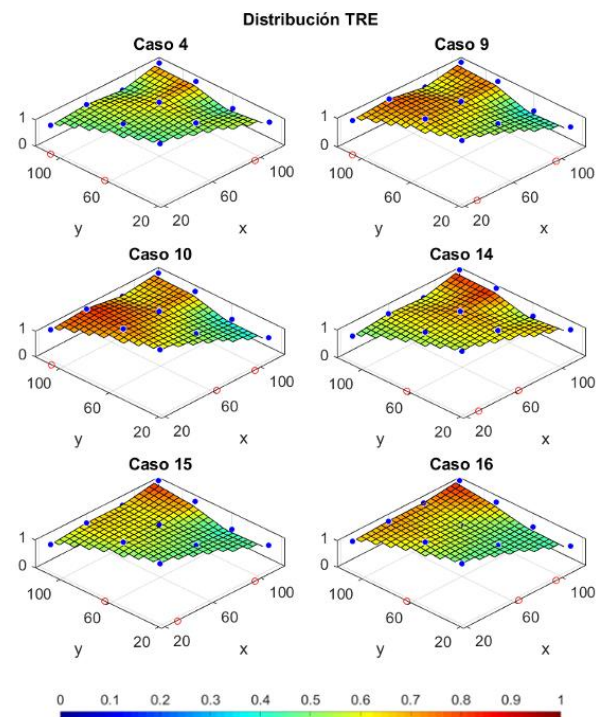


Figura 2. Distribución del TRE en los 6 mejores casos.

4. Discusión

Analizando los valores obtenidos tras las pruebas, mostrados en la Tabla 1, se puede observar como para

cada paso del procedimiento seguido se introduce una fuente de error. En el cálculo de los marcadores a partir del escáner, el error (FRE_{S-R}) medio es de aproximadamente 0.3 mm. Este proviene de errores en el proceso de segmentación del color y del error introducido por el propio escáner. Por otro lado el proceso de registro de marcadores entre el navegador electromagnético y el escáner presenta un error (FRE_{EM-S}) medio en torno a 0.5 mm. En este caso las fuentes principales de error son la precisión del propio sistema de posicionamiento electromagnético, el error de localización en la selección del punto con la aguja, el error de calibración de la aguja y de nuevo el error introducido por la localización de marcadores en el escáner. Por último, el error medio en el registro de puntos (TRE_{EM-R}) es resultado de la combinación de todos estos errores. Ese valor de TRE está directamente influido por la distribución de los marcadores puesto que, tal y como indican Fitzpatrick et al. [8], cuanto más lejos se encuentren los puntos de control donde se mide el TRE de estos, mayor error presentarán, y cuanto más separados entre sí y mejor distribuidos estén los marcadores, menor será el error.

Tras la representación de los valores de TRE para cada caso, se descartaron el 1 y 20 al presentar valores muy altos, superiores a 10 mm. Estos errores son resultado de un registro poco óptimo, causado por una distribución en línea de los marcadores. De los 18 casos restantes, se seleccionaron los 6 mejores según su error medio, que se corresponden con los mostrados en la Figura 2. Para todos ellos se obtuvo un TRE medio inferior a 0.65 mm, lo cual podría considerarse suficiente precisión para la aplicación clínica concreta.

Como ya se ha comentado, el cálculo de los errores TRE y su distribución se llevó a cabo no sólo para evaluar el sistema sino también para tomar una decisión acerca del diseño de la pieza de referencia. Esta debía presentar el mínimo error posible pero a su vez un tamaño reducido por motivos de comodidad. Teniendo en cuenta estos factores se eligió finalmente para el diseño la combinación correspondiente al caso 14 al presentar un error bajo y un tamaño razonable.

5. Conclusiones

Tras las pruebas realizadas se ha demostrado que la integración del escáner de superficie con el sistema de posicionamiento electromagnético según el procedimiento descrito es viable. Además, se ha diseñado una pieza de referencia con marcadores para combinar ambos sistemas que ofrece errores de precisión inferiores a 1 mm en un rango de aproximadamente 12 cm de distancia de los mismos.

Finalmente se concluye que, dados los resultados, la implementación de dicho procedimiento es adecuada con el objetivo de validar el método de deformación presentado por F. Pérez et al. [6] y por ello está en proceso la aprobación de un ensayo clínico que permita ponerlo en práctica. Además, estos resultados favorables plantean la posibilidad de emplear el uso combinado de estos dos sistemas según el procedimiento descrito para

otro tipo de aplicaciones donde puedan resultar de utilidad.

Agradecimientos

Proyecto parcialmente financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad, Instituto de Salud Carlos III (TEC2013-48251-C2-1-R, DTS14/00192, PI15/02121) y fondos FEDER.

Referencias

- [1] L. A. Torre, F. Bray, R. L. Siegel, J. Ferlay, J. Lortet-Tieulent, and A. Jemal, "Global cancer statistics, 2012.," *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 65, no. 2, pp. 87–108, Mar. 2015.
- [2] C. S. Kaufman, R. Delbecq, and L. Jacobson, "Excising the reexcision: Stereotactic core-needle biopsy decreases need for reexcision of breast cancer," *World J. Surg.*, vol. 22, no. 10, pp. 1023–1027, 1998.
- [3] S. P. Harlow, D. N. Krag, S. E. Ames, and D. L. Weaver, "Intraoperative ultrasound localization to guide surgical excision of nonpalpable breast carcinoma," *J. Am. Coll. Surg.*, vol. 189, no. 3, pp. 241–246, 1999.
- [4] T. Ungi, G. Gauvin, A. Lasso, C. T. Yeo, P. Pezeshki, T. Vaughan, K. Carter, J. Rudan, C. J. Engel, and G. Fichtinger, "Navigated Breast Tumor Excision Using Electromagnetically Tracked Ultrasound and Surgical Instruments.," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 63, no. 3, pp. 600–6, 2016.
- [5] M. J. Pallone, S. P. Poplack, H. B. R. Avutu, K. D. Paulsen, and R. J. Barth, "Supine Breast MRI and 3D Optical Scanning: A Novel Approach to Improve Tumor Localization for Breast Conserving Surgery," *Ann. Surg. Oncol.*, vol. 21, no. 7, pp. 2203–2208, 2014.
- [6] F. P. García, J. E. O. Fisac, M. H. Conde, O. B. Zamora, F. Calvo, J. Pascau, and M. J. L. Carbayo, "Localización de lesiones de mama en posición quirúrgica utilizando deformación laplaciana de mallas poligonales," *Actas del XXXIII Congr. Anu. la Soc. Española Ing. Biomédica*, pp. 499–502, 2015.
- [7] "Especificaciones Generales." [Online]. Available: <https://www.artec3d.com/es/artec-eva#specifications>. [Accessed: 30-Aug-2016].
- [8] J. M. Fitzpatrick, J. B. West, and C. R. Maurer, "Predicting error in rigid-body point-based registration.," *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 17, no. 5, pp. 694–702, 1998.

Modelado de Sistemas Biomédicos

Miércoles 23 de Noviembre

Analysis of Ion Currents Contribution to Repolarization in Human Heart Failure Using Computer Models

F. Marotta¹, M.A. Paci², S. Severi¹, B. Trenor³

¹ DEI, University of Bologna, Cesena, Italy, francesco.marotta5@studio.unibo.it, stefano.severi@unibo.it

² ELT, Tampere University of Technology, BioMediTech, Tampere, Finland, Michelangelo.paci@tut.fi

³ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería, Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain, btrenor@eln.upv.es

Abstract

The mechanisms underlying repolarization of the ventricular action potential (AP) are subject of research for anti-arrhythmic drugs. In fact, the prolongation of the AP occurs in several conditions of heart disease, such as heart failure, a major problem precursor for serious arrhythmias. In this study, we investigated the phenomena of repolarization reserve, defined as the capacity of the cell to repolarize in case of a functional loss, and the all-or-none repolarization, which depends on the delicate balance of inward and outward currents in the different phases of the AP, under conditions of human heart failure (HF). To simulate HF conditions, the O'Hara et al. human AP model was modified and specific protocols for all-or-none repolarization were applied. Our results show that in the early repolarization the threshold for all-or-none repolarization is not altered in HF even if a decrease in potassium currents can be observed. To quantify the contribution of the individual ion currents to HF induced AP prolongation, we used a novel piecewise-linear approximation approach proposed by Paci et al. In particular, I_{NaL} and I_{CaL} are the main responsible for APD prolongation due to HF (85 and 35 ms respectively). Our results highlight this novel algorithm as a powerful tool to have a more complete picture of the complex ionic mechanisms underlying this disease and confirm the important role of the late sodium current in HF repolarization.

1. Introduction

The repolarization phase of the ventricular action potential (AP) is driven by complex ionic mechanisms and is subject of research for anti-arrhythmic drugs [1]. Indeed, alterations in repolarization, such as AP duration (APD) prolongation and subsequent prolongation of the QT interval of the ECG is precursor for malignant arrhythmias [2]. APD prolongation occurs under pathological conditions, such as myocardial hypertrophy and heart failure (HF), where important alterations in the activity of ion currents arise [2]. The complex interactions of ion currents during the repolarization phase led to the idea of a protective physiological mechanism called "repolarization reserve". This mechanism is based on the principle that the membrane potential depends on the algebraic sum of all inward and outward currents and on the observation that the cell is capable to normally repolarize in the case of a functional loss by one of these currents, unless other types of lesion are present [3]. On

the other hand, the concept of all-or-none repolarization shows the critical time- and voltage-dependent interaction between: (i) the inactivating Na^+ current and (ii) the progressive activation of the time- and voltage-dependent K^+ currents, when voltage perturbations affect the myocyte. Mammalian hearts exhibit a repolarization threshold changing in the depolarizing direction as AP phase progresses [4]–[6].

In this study, we analyzed in silico the phenomenon of the all-or-none repolarization and repolarization reserve under conditions of HF. Indeed, HF is a major health problem affecting 5.8 million of patients in the USA and leading to 23 million of hospitalizations worldwide [7]. HF is the inability of the heart to supply an adequate amount of blood than normal body needs. For a number of causes, in fact, the heart muscle can weaken and generate less contractile force. The consequence of this effect is the reduction of ventricular cardiac output and stroke volume. During HF electrophysiological remodeling has been observed in human and animal hearts, as well as, alterations in calcium handling [8]. These changes are responsible for an altered repolarization, prolonged APD, and a low repolarization reserve.

In this study, we investigated the quantitative contributions of each ion current using a novel piecewise-linear approximation approach, and the delicate current balance for all-or-none repolarization in human HF.

2. Methods

2.1. Cardiac cellular models

To simulate ventricular repolarization, we used one of the latest mathematical model of the human ventricular action potential: the O'Hara et al. (ORd) [9] model. To simulate HF, specific parameters of the ORd model were modified, as reported in a previous study by our group [10]. Specifically, I_{NaL} as well as the time constant τ_{hL} were increased by 80% in human failing myocytes with respect to normal myocytes. The transient outward K^+ current (I_{to}) was reduced to 40% of its normal activity. The I_{K1} current has a strong dependence on the etiology and it was reduced to 68%. The activity of the Na^+/Ca^{2+}

exchanger was increased 1.75-fold. Instead the activity of I_{NaK} was reduced by 30% and the I_{SERCA} was decreased by 50%. With these changes we were able to reproduce the hallmark characteristics of HF like AP prolongation and alteration of Ca^{2+} handling.

2.2. All-or-none repolarization

APs were simulated at a pacing frequency of 1 Hz. After 700 beats, the model was in steady state. During the last AP, at the time instants 15, 30, 60, 150, 200, 250 ms, after the onset of the AP, the voltage was clamped for 20 ms to different holding potentials (-80, -60, -40, -20, -10, 1, 10, 20, 30, and 40 mV), as in [11]. After 20 ms of voltage clamp, the membrane voltage was let evolve freely, i.e. without any current stimulation or voltage clamp. To investigate thoroughly the mechanism of all-or-none repolarization we calculated the currents that played a role in this phenomenon, i.e. I_{CaL} , I_{to} , I_{K1} , I_{Kr} , I_{NaL} and I_{net} . I_{net} current is the sum of all membrane currents. The positive value of the net current justified the repolarization of the cell. If the net current was negative, the cell tended to depolarize. These currents were calculated during the 20 ms of voltage clamp.

2.3. Piecewise-Linear Approximation Approach

To study and quantify the contribution of ionic currents to HF-induced APD prolongation, the piecewise linear approximation algorithm proposed by Paci et al. [12] was used and modified for the case of HF [10]. This algorithm calculates, starting from its peak value, the single current contributions to APD prolongation. Indeed, HF changes (the perturbation) lead to an APD prolongation:

$$\Delta APD = APD_p - APD_b \quad (1)$$

where subscripts b and p denote respectively basal (control) and perturbed (HF) conditions at 90% of repolarization. This variation is due to changes in the ionic currents underlying any change in the membrane potential and mathematically described by the equation (2):

$$\frac{dV}{dt} = -\frac{1}{C} I_{tot} = -\frac{1}{C} \sum_i I_i(t) \quad (2)$$

Discrete dissection in small pieces of AP ($\Delta V = -1$ mV) is considered. Thus, we can rewrite the equation above for basal and perturbed conditions as:

$$\frac{\Delta V}{\Delta t_b} \cong -\frac{1}{C} \overline{I_{tot,b}} = -\frac{1}{C} \sum_i \overline{I_{i,b}} \quad (3)$$

$$\frac{\Delta V}{\Delta t_p} \cong -\frac{1}{C} \overline{I_{tot,p}} = -\frac{1}{C} \sum_i \overline{I_{i,p}} = -\frac{1}{C} (\sum_i \overline{I_{i,p}} + \sum_i \overline{\Delta I_i}) \quad (4)$$

where $\overline{I_{tot,b}}$, $\overline{I_{tot,p}}$, $\overline{I_{i,b}}$ and $\overline{I_{i,p}}$ are the average values of the corresponding currents over the time interval Δt_b and Δt_p respectively. $\overline{\Delta I_i}$ represents the change of each specific average current.

Setting $\Delta V = -1$ mV, and combining these equations, the change due to the perturbation, in the duration of the time interval, can be expressed as:

$$\begin{aligned} \Delta \Delta t &= \Delta t_p - \Delta t_b \cong C \left(\frac{1}{\overline{I_{tot,p}}} - \frac{1}{\overline{I_{tot,b}}} \right) \\ &= -C \left(\frac{\sum_i \overline{\Delta I_i}}{\overline{I_{tot,p}} \cdot \overline{I_{tot,b}}} \right) = \sum_i \Delta \Delta t_{I_i} \end{aligned} \quad (5)$$

where

$$\Delta \Delta t_{I_i} = -C \frac{\overline{\Delta I_i}}{\overline{I_{tot,p}} \cdot \overline{I_{tot,b}}} \quad (6)$$

is the quantitative contribution of the i-th ionic current to the local APD change $\Delta \Delta t$. Hence the total APD perturbation can be expressed as the sum of the contribution due to the each single ionic current $\Delta \Delta t_{I_i}$:

$$\Delta APD = \sum_i \Delta APD_i = \sum_i \sum_t \Delta \Delta t_{I_i} \quad (7)$$

3. Results and Discussion

3.1. Evidences for all-or-none repolarization

Figure 1 shows the evolution of the membrane potential after the voltage clamp protocols and the values of the repolarization threshold (when existing) highlighted by the arrows.

Figure 2 shows more in detail the membrane potential evolution during the 20 ms voltage clamp, applied at the time instant of 15 ms after AP onset. The threshold potential for repolarization is represented in blue, and for the following more depolarized voltage clamp value stands the red trace. We have represented the currents with more influence in this phenomenon, i.e. I_{to} , I_{CaL} , I_{K1} , I_{Kr} , I_{net} , I_{NaL} , during the 20 ms of voltage clamp.

An important observation is that when repolarization takes place (for the repolarization threshold), repolarizing currents I_{K1} (0.011 pA/pF vs 0.004 pA/pF at 20 ms) and I_{Kr} (0.688 pA/pF vs 0.668 pA/pF at 20 ms) are bigger and the depolarizing current I_{CaL} (-0.224 pA/pF vs -0.670 pA/pF at 20 ms) is smaller, thus I_{net} is positive. These values are observed at the end of the voltage clamp (20 ms in the currents graphs), when repolarization takes place in the AP graph. This happens in normal conditions (not shown) and also in HF.

It is to be noted that I_{K1} is always smaller in HF than in normal conditions, making it more difficult to repolarize. Although I_{Kr} activity is bigger in HF than in normal conditions at the instant of time considered, the bigger I_{CaL} also in HF makes it more difficult to repolarize. It is to be noted that the contribution of I_{CaL} is the most important in absolute value.

In normal conditions and also in HF, I_{NaL} is smaller for clamping potentials for which depolarization takes place, than for the repolarization threshold, which indicates that I_{NaL} seems not to have a crucial role in the of all-or-none

behavior at least in the early phase of repolarization. The elevated I_K currents seem to compensate the contribution of I_{NaL} in this phase.

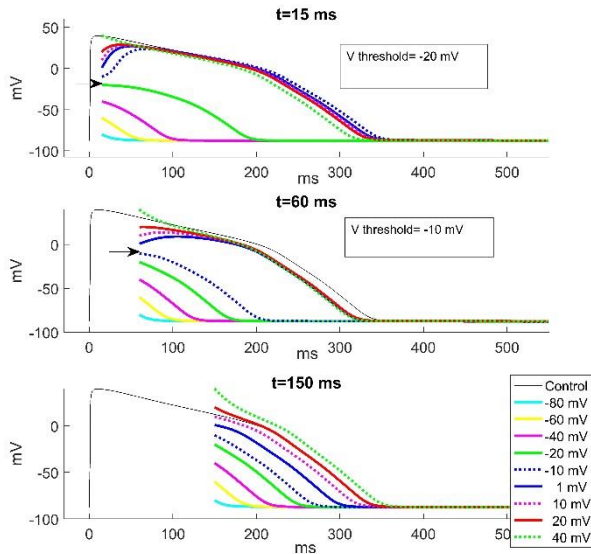


Figure 1. Evolution of membrane potential after the voltage clamp applied at the time of 15, 30, 60 ms in HF conditions. Control AP is shown in black. The arrows indicate the threshold potential for repolarization when existing.

In agreement with experimental studies [5], our simulations show that if the voltage is clamped to a higher value than the threshold potential for repolarization, the membrane potential depolarizes. In contrast, if the voltage is clamped to a lower value than the threshold, the membrane potential will repolarize, earlier than in the normal AP.

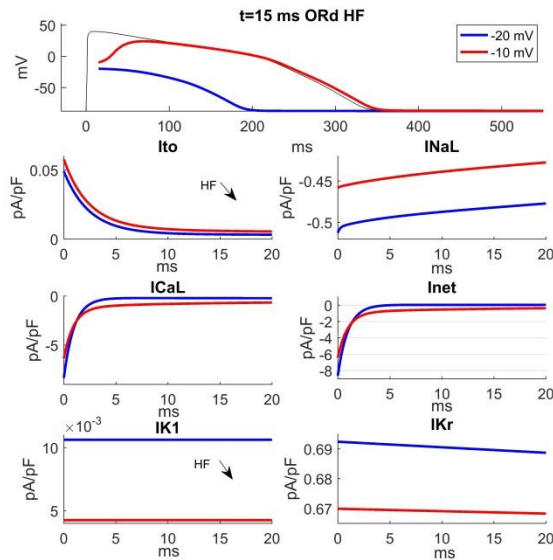


Figure 2. Evolution of membrane potential in HF conditions with ORd model (black trace). Voltage clamp was applied at the time instant of 15 ms after AP onset, and then the AP evolved freely. Threshold for repolarization is represented in blue and the potential value for which depolarization occurs is represented in red. Currents I_{to} , I_{CaL} , I_{K1} , I_{Kr} , I_{net} , I_{NaL} , were recorded during the 20 ms of voltage clamp.

As experimentally observed, the threshold for repolarization should be more negative in early repolarization, and less negative in the late repolarization [5] as shown in Figure 1.

No significant differences were observed in the threshold value in HF versus normal conditions (not shown), except for the time instant of 30 ms where the threshold was more negative in HF than in normal conditions (not shown) (-20 vs -10 mV). This was due to the higher activity of I_{CaL} , hampering repolarization in HF conditions. The slight changes with respect to normal conditions are shown with arrows in Figure 2, for the time instant $t=15$ ms for voltage clamp.

3.2. Quantification of ion currents contribution to HF APD prolongation

The piecewise linear approximation has been proven to be very efficient and reliable in quantifying the prolongation of action potential due to HF. In fact, the APD prolongation measured after normal and HF conditions simulations, and the APD prolongation computed using the piecewise-linear approximation approach yielded very similar values. The error was 1 ms, and this can be reduced if the number of steps in the simulation is increased. In fact, the real ΔAPD_{90} , that is the difference between the APD perturbed and normal, yielded 53 ms and the prolongation estimated by the proposed method is about 52 ms. This algorithm has also enabled us to assess the contribution of each ion current to this AP prolongation, as shown in Figure 3.

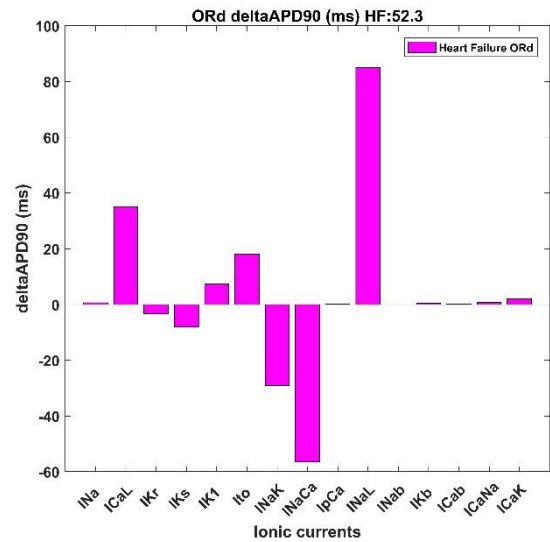


Figure 3. Table of total contribution of each ion current to APD HF induced prolongation.

In particular, I_{NaL} and I_{CaL} (85 and 35 ms respectively) are the main responsible for APD prolongation due to HF. On the contrary, the Na^+-Ca^{2+} exchanger and the Na^+-K^+ (-57 and -30 ms respectively) are the main mechanisms that try to reduce this perturbation.

4. Conclusions

Our simulations highlight the all-or-none behavior in repolarization of the latest human AP model by O'Hara et al. In fact, repolarization thresholds are present in the early repolarization phase and seem not to be altered under HF conditions. We observed that when I_{net} was positive repolarization was achieved and when I_{net} was negative the cell depolarized and tried to follow control AP waveform.

The main responsible mechanism for this behavior seemed to be the balance between K^+ currents and I_{CaL} . In the case of HF, we investigated also the role of I_{NaL} , which seemed not to have a major role in this phenomenon, at least in the early phase of repolarization.

With respect to the contribution of the single ionic currents to HF induced APD prolongation using the piecewise-linear approximation algorithm, our results highlighted an important global contribution of I_{NaL} throughout all the AP phases. This quantitative analysis allows us to better understand the trends and dynamics, during AP, of the individual membrane currents, thus giving a more complete picture of the complex repolarization mechanisms in HF.

Acknowledgments

This work was partially supported by the Programa Prometeo (PROMETEO/2016/088) of the la Conselleria d'Educació Formació I Ocupació, Generalitat Valenciana. Dr. Michelangelo Paci was supported by the Finnish Cultural Foundation (Central Fund) and by the COMPETITIVE FUNDING TO STRENGTHEN UNIVERSITY RESEARCH PROFILES funded by Academy of Finland (decision number 310325).

References

- [1] M. E. Anderson, S. M. Al-Khatib, D. M. Roden, and R. M. Califf, "Cardiac repolarization: Current knowledge, critical gaps, and new approaches to drug development and patient management," *Am. Heart J.*, vol. 144, no. 5, pp. 769–781, 2002.
- [2] C. T. January and J. C. Makielski, "Proarrhythmia related to prolongation of repolarization: mechanisms, monitoring, prevention and management," *Card. Electrophysiol. Rev.*, vol. 4, pp. 212–216, 2000.
- [3] D. M. Roden and R. L. Abraham, "Refining repolarization reserve," *Hear. Rhythm*, vol. 8, no. 11, pp. 1756–1757, 2011.
- [4] D. Noble, "A modification of the Hodgkin--Huxley equations applicable to Purkinje fibre action and pacemaker potentials," *J. Physiol.*, vol. 160, no. 21, pp. 317–352, 1962.
- [5] S. Weidmann, "Effect of current flow on the membrane potential of cardiac muscle," *J. Physiol.*, vol. 115, no. 2, pp. 227–36, 1951.
- [6] P. F. Cranefield and B. F. Hoffman, "Propagated repolarization in heart muscle," *J. Gen. Physiol.*, vol. 41, no. 4, pp. 633–649, 1958.
- [7] A. L. Bui, T. B. Horwich, and G. C. Fonarow, "Epidemiology and risk profile of heart failure," *Nat. Rev. Cardiol.*, vol. 8, no. 3, pp. 30–41, 2011.
- [8] F. G. Akar and G. F. Tomaselli, "Electrophysiological remodeling in heart failure," in *Electrical Diseases of the Heart: Volume 1: Basic Foundations and Primary Electrical Diseases*, 2013, pp. 369–386.
- [9] T. O'Hara, L. Virag, A. Varro, and Y. Rudy, "Simulation of the Undiseased Human Cardiac Ventricular Action Potential: Model Formulation and Experimental Validation," *PLoS Comput Biol*, vol. 7, no. 5, p. e1002061, 2011.
- [10] J. F. Gomez, K. Cardona, L. Romero, J. M. Ferrero, and B. Trenor, "Electrophysiological and structural remodeling in heart failure modulate arrhythmogenesis. 1D simulation study," *PLoS One*, vol. 9, no. 9, 2014.
- [11] D. Noble and R. W. Tsien, "Reconstitution of the repolarization process in Cardiac purkinje fibers based on voltage clamp measurements of membrane current," *J. Physiol*, vol. 200, pp. 233–254, 1969.
- [12] M. Paci, J. Hyttinen, and S. Severi, "Quantification of the ionic current contributions to alterations in the action potential repolarization by means of piecewise-linear approximation," *Comput. Cardiol. (2010).*, vol. 42, pp. 145–148, 2016.

Modelado y simulación del efecto del moxifloxacino en la componente rápida de la corriente diferida rectificadora de potasio

A. Maturana Candelas¹, J. Cano García¹, C.E. Clancy², L. Romero Pérez¹

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (CI2B), Universitat Politècnica de València, España. Iromero@ci2b.upv.es

² Department of Pharmacology, University of California Davis, Davis, CA, EEUU

Resumen

El moxifloxacino es un fármaco que se utiliza como control positivo en los estudios clínicos que evalúan el efecto de nuevos compuestos en la prolongación del intervalo QT. Nuestro objetivo consiste en modelizar y simular el efecto de moxifloxacino en la componente rápida de la corriente diferida de potasio (I_{Kr}).

Para ello, se ha utilizado el modelo de Markov de I_{Kr} ventricular humano de Fink y sus colaboradores, así como datos experimentales de la interacción entre el moxifloxacino y el canal hERG. Para simular su efecto a nivel celular, este modelo se ha introducido en el modelo de potencial de acción ventricular de O'Hara y sus colaboradores.

El modelo de moxifloxacino propuesto tiene mayor afinidad con el canal de I_{Kr} en el estado abierto, aunque interactúa en todos los estados. Este modelo reproduce la dependencia de inhibición de la corriente en función del voltaje, el tiempo y la concentración. Además, la concentración que produce la inhibición del 50% del canal (IC_{50}) al aplicar el protocolo de fijación de tensión con pulso seguido de rampa es aproximadamente el doble que la IC_{50} obtenida cuando la tensión se fija siguiendo la evolución del potencial de acción, tal y como se ha observado experimentalmente. Así mismo, al simular la aplicación de moxifloxacino a dosis terapéuticas se produce una prolongación de la duración del APD moderada, que concuerda con datos clínicos.

Además de proponer un modelo de interacción moxifloxacino- I_{Kr} , este trabajo pone de manifiesto la dependencia del IC_{50} con el protocolo de estimulación.

1. Motivación

La predicción de los efectos no deseados de los fármacos en las primeras fases del desarrollo ha cobrado una gran importancia en la seguridad farmacológica [1]. Uno de los efectos adversos más peligrosos de los fármacos es la pérdida de la seguridad cardíaca (cardiotoxicidad) [2]. Aproximadamente el 40 % de los nuevos compuestos farmacéuticos tienen efectos cardíacos secundarios no deseados [3].

Actualmente, la evaluación de la seguridad de los fármacos se basa primordialmente en la asociación entre el bloqueo del canal hERG producido por el fármaco in vitro, la prolongación del intervalo QT en vivo y la aparición de torsades de pointes (TdP) [4].

El moxifloxacino es un fármaco que se utiliza como control positivo en los estudios clínicos que evalúan el efecto de nuevos compuestos en la prolongación del QT. Se ha

demostrado que este fármaco bloquea la I_{Kr} [5], aunque a dosis terapéuticas se ha asociado con pequeñas prolongaciones del intervalo QT (~ 6 ms) y rara vez con la arritmia ventricular torsades de pointes [6].

En los últimos años ha surgido la iniciativa internacional Comprehensive in-vitro Pro-arrhythmia Assay (CiPA), liderada por la American Food and Drug Administration, que está estudiando la posibilidad de utilizar la simulación de la actividad cardíaca para la predicción del riesgo proarrítmico de los fármacos [4].

El objetivo de este trabajo es modelizar el efecto de moxifloxacino en la componente rápida de la corriente diferida de potasio (I_{Kr}). Para ello, se ha empleado el modelo de corriente de I_{Kr} ventricular humano de Fink y sus colaboradores [7], que es un modelo de Markov que modeliza la corriente de I_{Kr} del ventrículo humano, el cual ya se ha empleado en la simulación de otros fármacos. Para ajustar el modelo del fármaco se han utilizado los resultados experimentales obtenidos por Alexandrou y sus colaboradores [5]. En este trabajo también se pone de manifiesto la dependencia del IC_{50} , aspecto clave en la evaluación de la seguridad de los fármacos, con el protocolo de estimulación.

2. Métodos

Para simular la I_{Kr} ventricular de humano se ha utilizado el modelo propuesto por Fink y sus colaboradores [7]. Este modelo consiste en una cadena de Markov lineal de cinco estados, los cuales representan el estado abierto (O), estado inactivado (I) y tres diferentes estados que representan el canal cerrado (C_1 , C_2 y C_3). El esquema de esta configuración puede observarse en la figura 1.

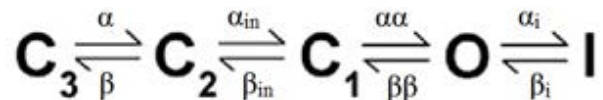


Figura 1. Modelo cinético de estados del canal de I_{Kr} ventricular de humano. Los estados C_1 , C_2 y C_3 corresponden a canal cerrado, el estado O corresponde a canal abierto y el estado I a canal inactivado.

Para simular el efecto de un fármaco con el canal I_{Kr} , se añaden al modelo anterior los estados de los canales unidos al fármaco (en negro) (ver figura 2). Este modelo contempla la posibilidad de que el fármaco se pueda ligar y desligar del canal en cada uno de los estados. Las

velocidades de unión y separación del fármaco pueden depender de la configuración del canal y, con ello, las velocidades de asociación ($k_x \cdot D$, siendo D la concentración de fármaco) y disociación (r_x). Por lo tanto, la modelización del moxifloxacino consistirá en obtener las constantes de asociación ($k_x \cdot D$) y disociación (r_x) en cada uno de los estados del canal. En todos los lazos cerrados se ha garantizado la reversibilidad microscópica igualando los productos de las velocidades de transición en los dos sentidos [8].

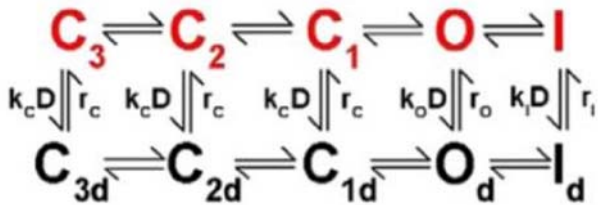


Figura 2. Modelo cinético de estados del canal I_{Kr} en presencia de una droga bloqueante del canal. Los estados en los que la droga está unida al canal aparecen con el subíndice “d”. Los parámetros k_c , k_o y k_i expresan la probabilidad de unión, y r_c , r_o y r_i la probabilidad de desunión. D es la dosis de fármaco administrado.

Los tres protocolos de estimulación de fijación de voltaje utilizados en las simulaciones de la interacción entre el fármaco y el canal (ver figura 3) replican los empleados por Alexandrou y sus colaboradores [5]. Estos protocolos de estimulación son los siguientes: fijación de potencial de membrana con pulso y rampa, fijación de potencial de membrana a un potencial de acción y fijación de potencial de membrana a tensiones variables.

En el protocolo de fijación de potencial de membrana con pulso y rampa (ver figura 3 arriba) se somete al canal de I_{Kr} a un voltaje fijo de -80 mV durante 1000 ms. A partir de este instante de tiempo, se despolariza la célula a +20 mV durante 1000 ms. Acto seguido, se vuelve a repolarizar la célula a razón de -0.5 mV/s hasta alcanzar -80 mV. El tiempo restante hasta alcanzar 4100 ms se mantiene a -80 mV. Este proceso se repite hasta llegar al régimen estacionario.

En el protocolo de fijación de potencial de membrana a un potencial de acción (ver figura 3 medio) se aplica una tensión variable en el tiempo que se corresponde con la evolución de la tensión de membrana celular durante un potencial de acción. La evolución temporal de la tensión de membrana corresponde a la evolución de un potencial de acción en estado estacionario simulado con el modelo de O’Hara y sus colaboradores [9] en una célula del endocardio a 1 Hz. Cada ciclo se repite cada 2 s hasta llegar al régimen estacionario.

Para simular el protocolo de fijación de potencial de membrana a tensiones variables (ver figura 3 abajo), en primer lugar, el potencial de membrana se fija al potencial de reposo, a -80 mV durante 100 ms. En los siguientes 5000 ms, el potencial de membrana adquiere un valor determinado (P). A continuación, se fija el valor de potencial a -40 mV durante 1000 ms. Finalmente, se vuelve

al potencial de reposo durante 2000 ms, a -80 mV. Este protocolo se realiza para valores de P desde -50 mV hasta +50 mV con incrementos de 10 mV.

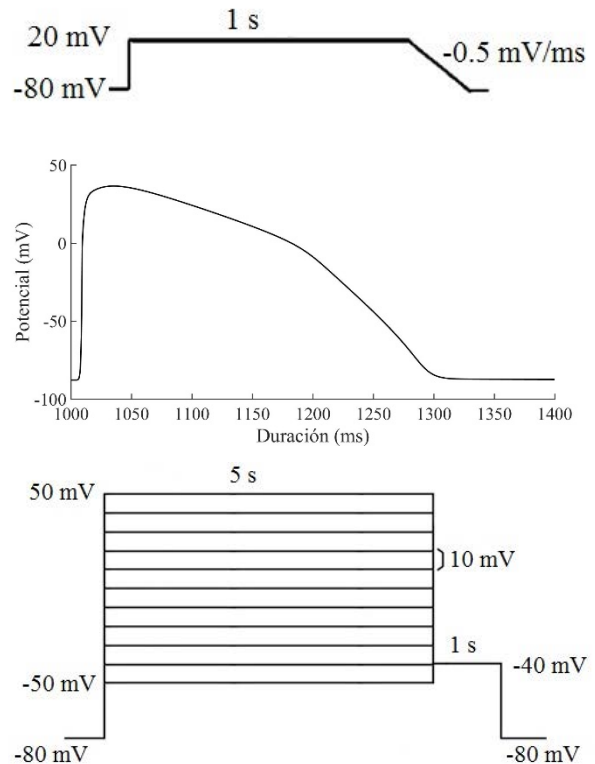


Figura 3. Representación de la evolución temporal del protocolo de fijación de potencial de membrana con pulso y rampa (arriba), del protocolo de fijación de potencial de membrana a un potencial de acción (medio) y del protocolo de fijación de potencial de membrana a tensiones variables (abajo).

El modelo de interacción moxifloxacino- I_{Kr} se ha incluido en el modelo de AP celular formulado por O’Hara y sus colaboradores [9] reemplazando la corriente I_{Kr} como en [10]. Las simulaciones celulares se han llevado a cabo a 1 Hz.

El procedimiento utilizado para obtener los parámetros de unión y desunión del moxifloxacino al canal es iterativo, partiendo de las drogas virtuales “actilide” que emplean Romero y sus colaboradores [9]. En este proceso se ajustan los parámetros k_c , k_o , k_i , r_c , r_o y r_i hasta que los resultados de evolución temporal de bloqueo, dependencia bloqueo-tensión y las curvas concentración-respuesta se ajusten a los datos experimentales de Alexandrou y sus colaboradores[5].

3. Resultados y discusión

El modelo de moxifloxacino propuesto tiene mayor afinidad con el canal de I_{Kr} en el estado abierto, aunque interactúa en todos los estados, y reproduce los resultados experimentales de Alexandrou y sus colaboradores [5]. Las velocidades de unión y separación del fármaco para cada estado del canal I_{Kr} se muestran en la tabla 1.

ESTADOS/PARÁMETROS	$k(\mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1})$	$r(\text{s}^{-1})$
Cerrado	$9.1575 \cdot 10^{-5}$	0.07212
Abierto	$9.1575 \cdot 10^{-5}$	0.001
Inactivado	$9.1575 \cdot 10^{-5}$	0.0045

Tabla 1. Velocidades de unión y separación del modelo de interacción moxifloxacin- I_{Kr} para cada estado del canal I_{Kr} .

Este modelo reproduce la evolución temporal del bloqueo de la corriente, la dependencia del bloqueo en función del voltaje, y las curvas de bloqueo de la corriente en función de la concentración del fármaco para diferentes protocolos de estimulación, tal y como se explica a continuación.

3.1. Evolución temporal del bloqueo de la corriente

La Figura 4 muestra la evolución de la inhibición de la corriente tras la aplicación de $100 \mu\text{M}$ de moxifloxacin cuando se aplica el protocolo de fijación de potencial de membrana con pulso y rampa. Los óvalos corresponden a los resultados experimentales de Alexandrou [5] y sus colaboradores, y la línea representa la simulación obtenida con el modelo propuesto.

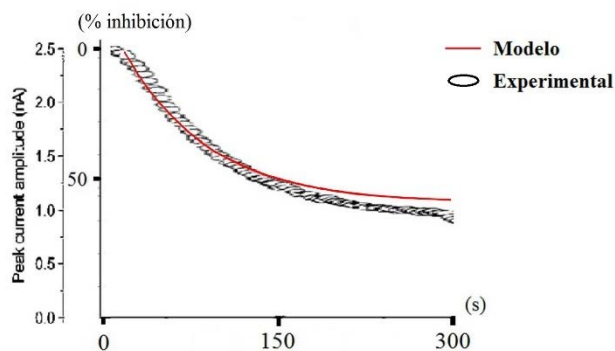


Figura 4. Comparación de la evolución experimental (círculos) y simulada (línea) de la inhibición de la corriente tras la aplicación de $100 \mu\text{M}$ de moxifloxacin. El protocolo aplicado es el de fijación de potencial de membrana de pulso y rampa en ambos casos. Los datos experimentales de [5] han sido reproducidos con permiso.

Se puede observar la gran similitud de la simulación con los resultados experimentales, aunque el modelo produce un bloqueo un 2% menor.

3.2. Curva concentración-respuesta

La potencia de bloqueo de moxifloxacin para distintas concentraciones se ha simulado para dos protocolos de fijación de potencial de membrana diferentes: el de pulso y rampa y el de potencial de acción. En la Figura 5 se muestra la simulación de la evolución temporal de la corriente durante la fijación del potencial de membrana para que siga la evolución de un potencial de acción en control y en presencia de $60 \mu\text{M}$ de moxifloxacin. Esta figura también muestra los resultados experimentales obtenidos por Alexandrou y sus colaboradores [5]. Se

puede observar la gran similitud con los resultados experimentales.

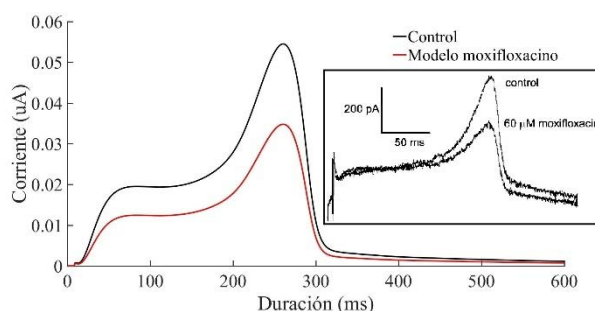


Figura 5. Evolución temporal de la corriente durante la fijación del potencial de membrana a un potencial de acción en control y en presencia de $60 \mu\text{M}$ de moxifloxacin. Los datos experimentales de [5] han sido reproducidos con permiso.

La figura 6 muestra las curvas concentración-respuesta obtenidas para los protocolos de fijación de la tensión con pulso y rampa (negro) y con un potencial de acción (rojo). También se han insertado las curvas experimentales publicadas por Alexandrou y sus colaboradores [5]. Los IC_{50} obtenidos en nuestras simulaciones son $74.8 \mu\text{M}$ y $176 \mu\text{M}$, los cuales son similares a los valores registrados experimentalmente.

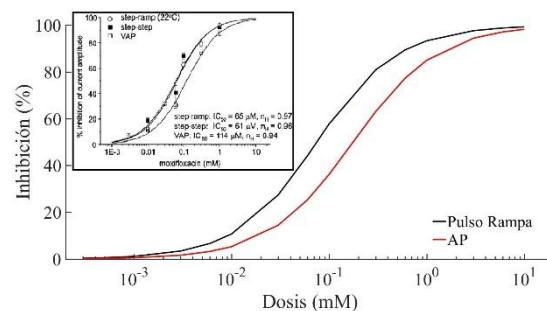


Figura 6. Simulación de la inhibición porcentual de canal de I_{Kr} en función de la concentración de moxifloxacin obtenida con los protocolos de estimulación de fijación del potencial a un pulso y rampa (negro), y a un potencial de acción (rojo). Se insertan los datos experimentales de Alexandrou y sus colaboradores [5], que han sido reproducidos con permiso.

3.3. Dependencia del bloqueo de la corriente con la tensión

Se ha simulado el efecto de $60 \mu\text{M}$ de moxifloxacin a distintas tensiones de membrana aplicando el protocolo de fijación de potencial de membrana a tensiones variables. La figura 7 muestra el porcentaje de inhibición de la corriente en función de la tensión.

Se observa que la inhibición de la corriente aumenta con el potencial de membrana, partiendo de 21% a -30 mV y llegando al 56.7% a 50 mV . Esta dependencia del bloqueo de la corriente con la tensión de membrana se ajusta en gran medida a los extraídos de la experimentación, aunque los bloqueos simulados son ligeramente superiores.

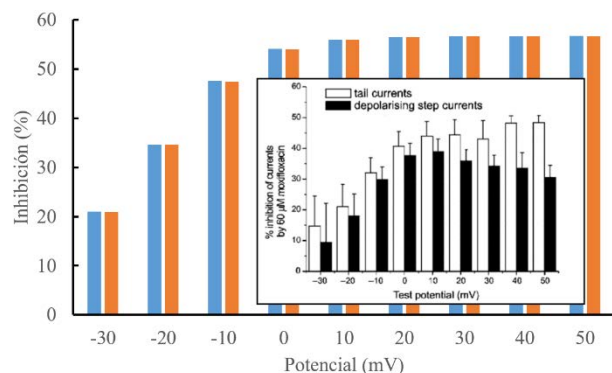


Figura 7. Simulación de la inhibición de I_{Kr} producida por $60 \mu\text{M}$ de moxifloxacino en función del potencial de membrana. Las barras azules representan los valores de inhibición de la corriente de pico durante la repolarización a -40 mV . Las barras naranjas representan los valores de la inhibición de la corriente al final del pulso de despolarización. Se insertan los datos experimentales de Alexandrou y sus colaboradores [5], que han sido reproducidos con permiso.

3.4. Efecto en el potencial de acción

El modelo de moxifloxacino propuesto se ha utilizado para simular su efecto a nivel celular. La figura 8 muestra la simulación del potencial de acción bajo los efectos de concentraciones terapéuticas de moxifloxacino ($5.6 \mu\text{M}$) [11].

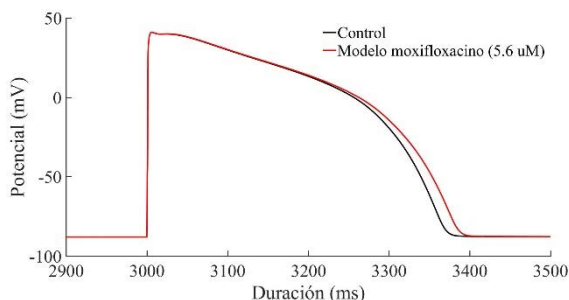


Figura 8. Potencial de acción control y en presencia de moxifloxacino a concentraciones terapéuticas ($5.6 \mu\text{M}$).

La simulación con concentración terapéutica de moxifloxacino provoca un aumento de la duración del potencial de acción en el estado estacionario de 16 ms. Esta pequeña prolongación del potencial de acción está en línea con las pequeñas prolongaciones del intervalo QT observadas clínicamente [6].

4. Conclusiones

Se ha propuesto una modelización del efecto del moxifloxacino en la I_{Kr} que puede utilizarse para estudiar los efectos de este fármaco mediante simulaciones multiescala. Además, este estudio también pone de

manifiesto la dependencia del IC_{50} de I_{Kr} con el protocolo de estimulación. Este hecho tiene una gran relevancia en la evaluación del riesgo proarrítmico de nuevos fármacos, ya que actualmente el valor del IC_{50} de I_{Kr} es crucial.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad y por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) DPI2015-69125-R (MINECO/FEDER, UE) y the National Institutes of Health R01 HL128537-01.

Referencias

- [1] Pollard CE, Abi GN, Bridgland-Taylor MH, Easter A, Hammond TG y Valentin JP. 2010. An introduction to QT interval prolongation and non-clinical approaches to assessing and reducing risk. *Br J Pharmacol*; 159: 12-21.
- [2] Valentin JP y Hammond T. 2008. Safety and secondary pharmacology: successes, threats, challenges and opportunities. *J Pharmacol Toxicol Methods*; 58: 77-87.
- [3] Noble D. Computational Models of the Heart and Their Use in Assessing the Actions of Drugs. 2008. *J Pharmacol Sci* 107, 107 – 117.
- [4] Sager PT, Gintant G, Turner JR, Pettit S y Stockbridge N. 2014. Rechanneling the cardiac proarrhythmia safety paradigm: a meeting report from the Cardiac Safety Research Consortium. *Am Heart J*; 167: 292-300.
- [5] Alexandrou AJ, Duncan RS, Sullivan A, Hancox JC, Leishman DJ, Witchel HJ y Leaney JL. Mechanism of hERG K^+ channel blockade by the fluoroquinolone antibiotic moxifloxacino. 2006. *British Journal of Pharmacology*; 147, 905–916.
- [6] Shah, RR. Drugs, QT interval prolongation and ICH E14. 2005. *Drug Saf.*; 28(2):115-25.
- [7] Fink M, Noble D, Virag L, Varro A y Giles WR. Contributions of hERG K^+ current to the repolarization of the human ventricular action potential. 2008. *Prog Biophys Mol Biol.*; 96(1-3):357-76.
- [8] Colquhoun D, Dowsland KA, Beato M y Plested AJ. How to impose microscopic reversibility in complex reaction mechanisms. 2004. *Biophys J.*; 86(6):3510--3518.
- [9] O'Hara T, Virag L, Varró A y Rudy Y. Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: model formulation and experimental validation. 2011. *PLoSComputBiol.*; 7(5):e1002061. doi:10.1371/journal.pcbi.1002061
- [10] Romero L, Trenor B, Yang PC, Saiz J y Clancy CE. In silico screening of the impact of hERG channel kinetic abnormalities on channel block and susceptibility to acquired long QT syndrome. 2015. *J Mol Cell Cardiol.*; 72:126-37. doi: 10.1016/j.yjmcc.2014.02.018.
- [11] Página web dailymed.nlm.nih.gov (Consultada: septiembre 2016).

Simulación del efecto de la ranolazina en presencia del SQT3 producido por la mutación SCN5A V411M

C. Santamaría Jordá¹, M.A. Arnau Vives², E. Zorio Grima², L. Romero Pérez¹

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (CI2B), Universitat Politècnica de València, España. lromero@ci2b.upv.es

² Servicio de Cardiología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, España, unidad.ms.cv@gmail.com

Resumen

A pesar de la intensa investigación desarrollada, el tratamiento de las arritmias cardíacas está lejos de ser satisfactorio. En los últimos años se ha descubierto que los defectos genéticos (mutaciones) del paciente juegan un papel importante en la eficacia y seguridad de las terapias farmacológicas.

El objetivo de este trabajo es la modelización y simulación de la mutación SCN5A V411M causante del síndrome de QT largo tipo 3 y estudiar el uso de la ranolazina como posible tratamiento terapéutico. Para ello, se ha utilizado un programa de optimización de parámetros, el modelo matemático de corriente de sodio ventricular humano más actual, el de Moreno y sus colaboradores, el modelo de ranolazina de los mismos autores y el modelo de potencial de acción ventricular de humano de O'Hara y sus colaboradores.

El modelo de la mutación reproduce las alteraciones electrofisiológicas producidas por la mutación en el canal iónico: el desplazamiento de 8 mV hacia potenciales más negativos de las curvas de activación e inactivación en estado estacionario, y el aumento del pico de la corriente lenta de sodio con respecto al pico de la corriente rápida de sodio en un 76%. Las simulaciones muestran que la mutación prolonga el potencial de acción 19 ms y 51 ms cuando aparece de manera heterocigótica y homocigótica, respectivamente. La simulación de la aplicación de concentraciones terapéuticas de ranolazina reduce la prolongación del potencial de acción producido por la mutación SCN5A V411M, sin afectar a la velocidad de despolarización del potencial de acción.

1. Introducción

El síndrome de QT largo tipo 3 (SQT3) está ocasionado por mutaciones en el gen SCN5A, que codifica para la subunidad α del canal de sodio Nav1.5 y está localizado en el cromosoma 3 (3p21-24). Las mutaciones en este gen son causantes del SQT3 en el 5-10% de los casos [1]. En el SQT3 la inactivación defectuosa del canal permite la entrada sostenida de Na^+ durante la fase de meseta del potencial de acción y prolonga su duración.

Una de las mutaciones causantes del SQT3 es la mutación SCN5A V411M. Los efectos electrofisiológicos producidos por esta mutación en la corriente I_{Na} han sido estudiados experimentalmente por Horne y sus colaboradores [2] en células *human embryonic kidney* (HEK) heterólogas, en las que se ha introducido ADN complementario normal y con la mutación SCN5A V411M. Estos autores observaron que la curva de activación e inactivación en el estado estacionario se desplazan 8.1 mV y 7.9 mV respectivamente hacia

potenciales más negativos en los canales mutados. Juntamente a estos cambios, observaron el incremento del pico de la densidad de corriente durante la repolarización.

En los últimos años se ha descubierto que los defectos genéticos (mutaciones) tienen una gran influencia en la susceptibilidad a las arritmias y en la eficacia y seguridad de las terapias farmacológicas [3]. La ranolazina es un fármaco tremendamente seguro y su uso más extendido es en cardiopatía isquémica aunque últimamente se ha comprobado que también puede jugar un papel en el tratamiento del SQT3 [4]. Este fármaco podría resultar interesante en el caso de la mutación SCN5A V411M porque bloquea principalmente la corriente lenta de sodio. Por lo tanto, en este trabajo se modelizará y simulará la mutación SCN5A V411M causante del síndrome de QT largo tipo 3 y se estudiará el uso de la ranolazina como posible tratamiento terapéutico.

2. Materiales y métodos

2.1. Modelo del canal iónico de sodio y de ranolazina

El modelo utilizado para simular la corriente de sodio es el modelo de Markov propuesto por Moreno y colaboradores del año 2013 [5]. Este modelo se trata de una expansión del modelo de canal iónico de Na^+ formulado anteriormente por el mismo grupo de investigación en 2011 [6] que incluye los estados *burst* que emergen a partir de los estados cerrados y del abierto que no se inactiva (Figura 1). Para ello, los nuevos estados en modo *burst* de los estados C3, C2, C1 y O se añadieron en el modelo y se denominaron con el prefijo B (BC3, BC2, BC1 y BO).

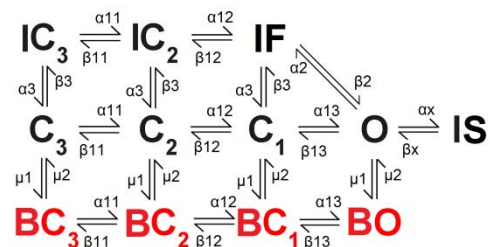


Figura 1. Esquemático de la cadena de Markov de la corriente de sodio, con la inclusión del modo *burst* [5].

Las velocidades de transición entre estados se muestran en la Tabla 1. Las velocidades que regulan la transición entre los modos de *burst* y los estados de control (μ_1 = entrada en el modo *burst*, y μ_2 = regreso desde el modo *burst*) son

independientes del tiempo y representan la probabilidad de transición entre los dos modos.

El modelo de ranolazina utilizado es el propuesto por los mismos autores, que contempla tanto el bloqueo de la corriente de sodio como de la componente rápida de la corriente diferida rectificadora de potasio (I_{Kr}) [5].

2.2. Herramienta de ajuste de parámetros de canales iónicos

En este trabajo se ha modificado la herramienta de optimización de parámetros de modelos de canales iónicos desarrollada por Moreno y sus colaboradores [7]. Esta herramienta incluye una cadena de Markov para el canal de sodio, pero sin los estados *burst*, por lo que se han incluido estos estados.

$IC3 \rightarrow IC2, C3 \rightarrow C2$	$\alpha_{11} = \frac{1}{(a_{11_{v1}} * \exp(-\frac{V}{a_{11_{v2}}}))}$
$IC2 \rightarrow IF, C2 \rightarrow C1$	$\alpha_{12} = a_{12} * \alpha_{11}$
$C1 \rightarrow O$	$\alpha_{13} = a_{13} * \alpha_{11}$
$IC2 \rightarrow IC3, C2 \rightarrow C3$	$\beta_{11} = \frac{1}{(b_{11_{v1}} * \exp(-\frac{V}{b_{11_{v2}}}))}$
$IF \rightarrow IC2, C1 \rightarrow C2$	$\beta_{12} = b_{12} * \beta_{11}$
$O \rightarrow C1$	$\beta_{13} = b_{13} * \beta_{11}$
$IC3 \rightarrow C3,$ $IC2 \rightarrow C2,$ $IF \rightarrow C1$	$\alpha_3 = a_{3_{v1}} * \exp(-\frac{V}{a_{3_{v2}}})$
$C3 \rightarrow IC3,$ $C2 \rightarrow IC2,$ $C1 \rightarrow IF$	$\beta_3 = b_{3_{v1}} * \exp(-\frac{V}{b_{3_{v2}}})$
$IF \rightarrow O$	$\beta_2 = \frac{\alpha_{13} * \alpha_2 * \alpha_3}{\beta_{13} * \beta_3}$
$O \rightarrow IF$	$\alpha_2 = a_{2_{v1}} * \exp(-\frac{V}{a_{2_{v2}}})$
$O \rightarrow IS$	$\alpha_x = a_x * \alpha_2$
$IS \rightarrow O$	$\beta_x = b_x * \alpha_3$
$C3, C2, C1, O$ $\rightarrow BC3, BC2, BC1, BO$	$\mu_1 = 2.0462e - 07$
$BC3, BC2, BC1, BO$ $\rightarrow C3, C2, C1, O$	$\mu_2 = 8.9731e - 04$

Tabla 1. Velocidades de transición entre los estados del canal de sodio (Figura 1). Las velocidades de transición están medidas en (ms^{-1}). Los valores de los parámetros en control aparecen en la segunda columna de la Tabla 2.

Las funciones objetivo de cada experimento son definidas como la suma de errores al cuadrado entre el experimento y la simulación, luego es normalizado por el número de muestras de cada protocolo. Para realizar la optimización de los parámetros Moreno y sus colaboradores eligen un algoritmo de optimización Nelder Mead cerrado que únicamente permite velocidades de transición positivas [8].

Los protocolos de fijación de voltaje reproducen los utilizados por Horne y sus colaboradores para caracterizar las alteraciones electrofisiológicas de un canal de sodio afectado por la mutación SCN5A V411M [2] y se describen a continuación:

- Protocolo para la obtención del valor estacionario de la inactivación. Inicialmente se fija el potencial de membrana a un valor comprendido entre -160 y 0 mV, en intervalos de 5 mV durante 300 ms. Seguidamente se lleva el potencial a un valor de -20 mV durante 20 ms.

- Protocolo para la obtención del valor estacionario de activación. Inicialmente se fija el potencial de membrana a un valor de -100 mV. Seguidamente, se despolariza a un valor comprendido entre -75 mV y 20 mV en intervalos de 5 mV, durante 25 ms. Finalmente, se devuelve el potencial a los -100 mV iniciales.

- Protocolo de despolarización en escalón y repolarización en rampa. Se mantiene el potencial de membrana en un valor de reposo, -110 mV y seguidamente se excita la célula elevando el potencial hasta los 20 mV, manteniendo este voltaje durante 100 ms, a partir de este instante se va disminuyendo el potencial de forma progresiva hasta alcanzar de nuevo el potencial de reposo a -110 mV formando así una rampa de voltaje negativa.

2.3. Modelo de miocito ventricular humano

Para realizar simulaciones unicelulares se ha emplea una versión del modelo de ventrículo humano presentado por O'Hara y sus colaboradores [9] en el que las formulaciones de la corriente de sodio rápida y lenta se reemplazan por el modelo de Moreno y sus colaboradores [7]. Las simulaciones celulares se han llevado a cabo a 1Hz.

3. Resultados y discusión

3.1. Modelo de la mutación SCN5A V411M

Tras la inclusión de los estados *burst* en el modelo de la corriente de sodio de la herramienta de optimización, se calculan los nuevos parámetros de las velocidades de transición entre los estados del canal de sodio. Estos parámetros se obtienen de modo que la simulación del modelo se ajuste a los objetivos definidos y por tanto, reproduzca el funcionamiento de los canales con la mutación SCN5A V411M. Los valores de los parámetros en control y para la mutación SCN5A V411M se muestran en la Tabla 2.

Parámetros	Control	Ajuste SCN5A V411M
a11_v1	0.0076	0.0040
a11_v2	32.7640	21.5386
a12	0.5887	0.0366
a13	0.1542	0.0663
b11_v1	2.5898	4.7108
b11_v2	8.5072	12.0425
b12	0.0014	0.0903
b13	2.8880	0.8687
a3_v1	3.2459e-05	5.57e-06
a3_v2	9.5951	7.2751
b3_v1	1.3771	1.2003
b3_v2	21.1260	58.6924
a2_v1	11.0860	3.4233
a2_v2	43.7250	18.4088
ax	0.0415	0.0100
bx	0.0208	0.0043

Tabla 2. Valores de los parámetros de las velocidades de transición entre estados para el canal de Na^+ en control y con la mutación SCN5A V411M.

Este ajuste proporciona un modelo que reproduce fielmente las alteraciones observadas experimentalmente en la corriente de sodio, como se puede observar en la Figura 2. En efecto, el modelo de la mutación reproduce el desplazamiento de 8 mV hacia potenciales más negativos de las curvas de activación (Figura 2A) e inactivación

(Figura 2B) en estado estacionario, el incremento de corriente en el rango desde -60 mV a 0 mV (Figura 2C) y el aumento del pico de sodio lento con respecto al pico rápido en un 76% (Figura 2D)[2].

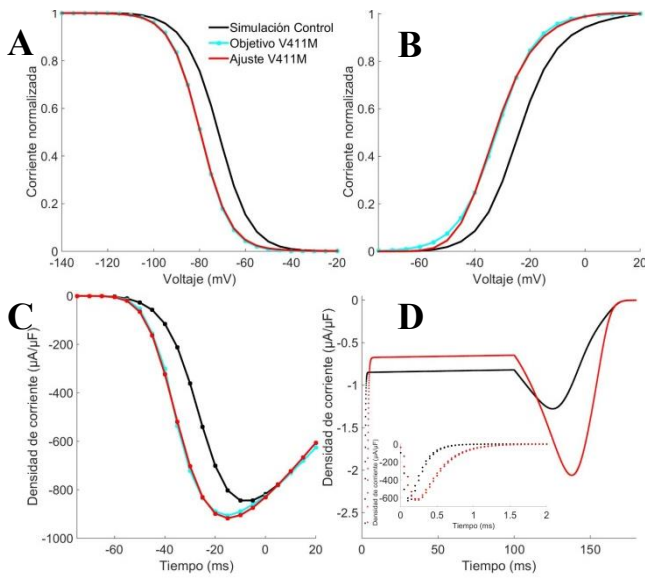


Figura 2. Representación de las alteraciones electrofisiológicas producidas por la mutación SCN5A V411M y por el modelo ajustado. A: Curva de inactivación en el estado estacionario. B: Curva de activación en el estado estacionario. C: Curva de pico de la densidad de corriente en función del voltaje. D: Corriente de sodio ante el protocolo de despolarización en escalón y repolarización en rampa.

3.2. Efecto de la mutación SCN5A V411M a nivel celular

Para simular el efecto de la mutación SCN5A V411M a nivel celular, se han llevado a cabo simulaciones de miocitos en control, miocitos con la mutación heterocigótica (50% de los canales de sodio mutados) y miocitos con la mutación homocigótica (100% de los canales de sodio mutados).

La Figura 3 nos muestra el potencial de acción (A) y la corriente de sodio (B) para los tres tipos de células que acabamos de comentar. Se observa que la mutación incrementa la duración del potencial de acción. En el caso de la mutación heterocigótica, solo se prolonga 19 ms, lo que concuerda con las pequeñas prolongaciones de QT observadas en pacientes que presentan esta mutación en su forma heterocigótica. Éste es el caso publicado por Carrasco y sus colaboradores en el que el paciente presentaba un QT de 485 ms [10]. También se observa que la corriente lenta de sodio aumenta cuando se manifiesta la mutación SCN5A V411M en los canales de sodio. Por lo tanto, el alargamiento del potencial de acción se debe al aumento de la corriente lenta de sodio.

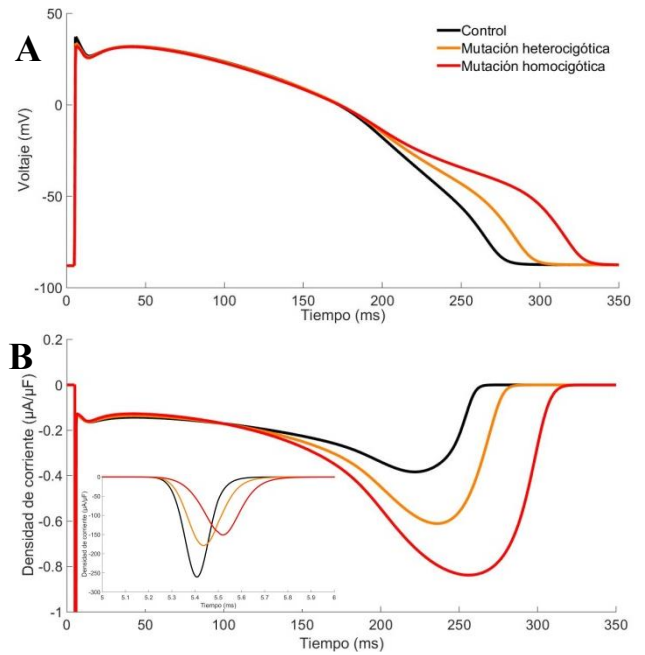


Figura 3. Efecto de la mutación SCN5A V411M a nivel celular. A: Simulación del potencial de acción. B: Simulación de la corriente de sodio. En detalle se muestra la corriente rápida de sodio.

3.3. Efecto de la ranolazina en presencia de la mutación SCN5A V411M

Una posible forma de corregir los efectos que produce la mutación SCN5A V411M en el comportamiento del miocito podría ser el uso de ranolazina, ya que el alargamiento del potencial de acción es debido al aumento de la corriente lenta de sodio. Para estudiar esta hipótesis, se han simulado de los efectos de la ranolazina en presencia de esta mutación aplicando para cada caso dos concentraciones de ranolazina distintas, 5 µM y 10 µM.

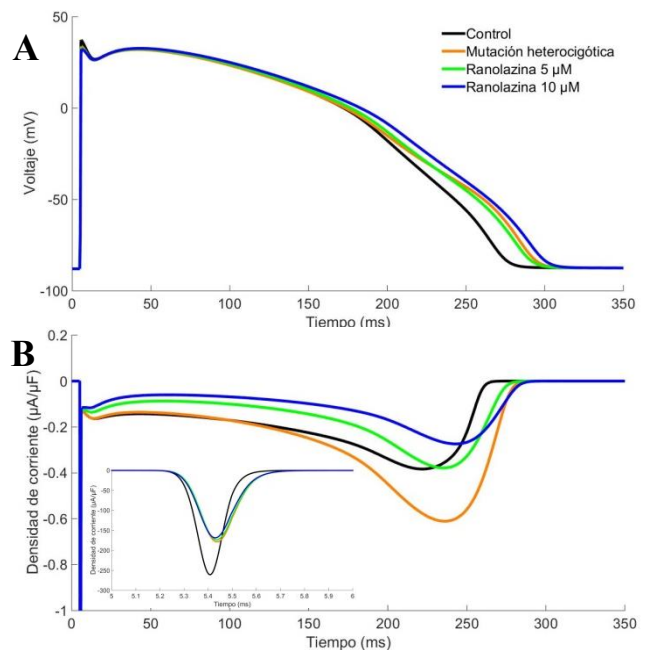


Figura 4. Efecto de la ranolazina en presencia de la mutación SCN5A V411M heterocigótica. A: Simulación del potencial de acción. B: Simulación de la corriente de sodio. En detalle se muestra la corriente rápida de sodio.

En la Figura 4A se aprecia una ligera reducción de la duración del potencial de acción cuando se aplica una concentración de ranolazina de 5 μM . Sin embargo, el potencial de acción se prolonga al aplicar una concentración de ranolazina de 10 μM . Esto es debido a que la ranolazina también bloquea la I_{Kr} . La Figura 4B muestra la reducción de la corriente lenta de sodio, que es el objetivo del tratamiento con ranolazina. En el detalle se comprueba que la corriente rápida de sodio apenas se ve afectada cuando se añade el ranolazina, por lo que es de suponer que no se reduciría la velocidad de propagación del impulso cardíaco en presencia del fármaco.

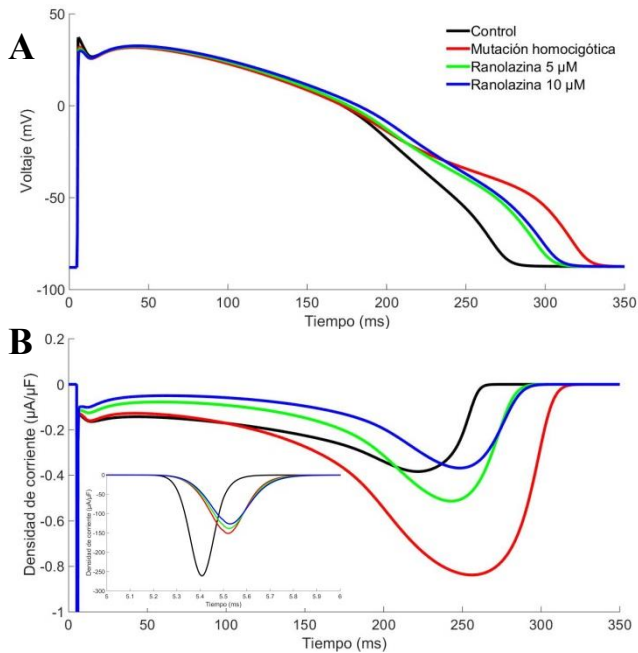


Figura 5. Efecto de la ranolazina en presencia de la mutación *SCN5A V411M* homocigótica. A: Simulación del potencial de acción. B: Simulación de la corriente lenta de sodio. En detalle se muestra la corriente rápida de sodio.

La Figura 5 muestra los resultados de las simulaciones de la mutación homocigótica. En este caso, la duración del potencial de acción se acorta para todas las concentraciones de ranolazina. Esto se debe a que la corriente lenta de sodio es mucho más grande que en el caso anterior y el bloqueo de esta corriente afecta más a la duración del PA que el bloqueo de I_{Kr} . La corriente lenta de sodio se reduce considerablemente hasta alcanzar un valor de pico similar al de control cuando se aplican 10 μM de ranolazina, mientras que en el detalle se observa que la variación de la corriente rápida de sodio es despreciable.

4. Conclusiones

El modelo de la mutación *SCN5A V411M* causante del síndrome de QT largo tipo 3 propuesto reproduce las alteraciones electrofisiológicas del canal iónico observadas experimentalmente. Nuestras simulaciones revelan que la ranolazina podría tratarse de una terapia efectiva para contrarrestar el alargamiento del potencial de acción producido por la mutación *SCN5A V411M* causante del

síndrome de QT largo de tipo 3, sin afectar a la velocidad de propagación del impulso cardíaco.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad y por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) DPI2015-69125-R (MINECO/FEDER, UE) y por la Generalitat Valenciana, Programa Prometeo: 2016/088.

Referencias

- [1] Napolitano, C., Priori, S.G., Schwartz, P.J. et al, Genetic testing in the long QT syndrome: development and validation of an efficient approach to genotyping in clinical practice. *JAMA*. 2005;294:2975–2980.
- [2] Andrew J. Horne, Jodene Eldstrom, Shubhayan Sanatani, David Fedida. A novel mechanism for LQT3 with 2:1 block: A pore-lining mutation in Nav1.5 significantly affects voltage-dependence of activation. *Heart Rhythm*, Volume 8, Issue 5, 770-777.
- [3] Splawski I, Timothy KW, Tateyama M, Clancy CE, Malhotra A, Beggs AH, Cappuccino FP, Sagnella GA, Kass RS y Keating MT. 2002. Variant of *SCN5A* sodium channel implicated in risk of cardiac arrhythmia. *Science*; 297: 1333-1336.
- [4] Huang H, Priori SG, Napolitano C, O'Leary ME y Chahine M. 2011. Y1767C, a novel *SCN5A* mutation, induces a persistent Na^+ current and potentiates ranolazine inhibition of Nav1.5 channels. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; 300: H288-H299].
- [5] Moreno JD, Yang PC, Bankston JR, Grandi E, Bers DM, Kass RS, et al. Ranolazine for congenital and acquired late INa-linked arrhythmias: in silico pharmacological screening. *Circ Res* 2013 113: e50–61. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.113.301971 PMID: 23897695.
- [6] Moreno JD, Zhu ZI, Yang PC, Bankston JR, Jeng MT, Kang C, Wang L, Bayer JD, Christini DJ, Trayanova NA, Ripplinger CM, Kass RS, Clancy CE. A computational model to predict the effects of class I anti-arrhythmic drugs on ventricular rhythms. *Sci Transl Med*. 2011;3:98ra83.
- [7] Moreno JD, Lewis TJ, Clancy CE (2016) Parameterization for In-Silico Modeling of Ion Channel Interactions with Drugs. *PLoS ONE* 11(3): e0150761. doi:10.1371/journal.pone.0150761.
- [8] Nelder J. A. and Mead R. A simplex method for function minimization. *The Computer Journal* (1965) 7 (4): 308-313 doi:10.1093/comjnl/7.4.308.
- [9] Thomas O'Hara, László Virág, András Varró, Yoram Rudy. Simulation of the Undiseased Human Cardiac Ventricular Action Potential: Model Formulation and Experimental Validation. *PLoS Comput Biol*. 2011 May; 7(5): e1002061. Published online 2011 May 26. doi: 10.1371/journal.pcbi.1002061.
- [10] Carrasco JI, Izquierdo I, Medina P, Arnau MA, Salvador A y Zorio E. 2012. Flecainide, a therapeutic option in a patient with long QT syndrome type 3 caused by the heterozygous V411M mutation in the *SCN5A* gene. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*; 65: 1058-1059.

Mejora en la predicción del riesgo de cardiotoxicidad inducida por fármacos mediante un nuevo biomarcador

J. Cano¹, L. Romero¹, J. Gomis-Tena¹, F. Sanz², M. Pastor², J. Saiz¹

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (CI2B), Universitat Politècnica de València, València, España, jordi.cg89@gmail.com, {lromero, jsaiz}@ci2b.upv.es, jgomiste@eln.upv.es.

² Research programme on Biomedical Informatics (GRIB), IMIM, Universitat Pompeu Fabra, PRBB.

Resumen

La predicción de la cardiotoxicidad de los nuevos fármacos es un aspecto crucial tanto para empresas como para agencias reguladoras. Nuestro objetivo consiste en obtener un nuevo biomarcador que pueda ayudar a mejorar la evaluación de la cardiotoxicidad mediante la simulación de los efectos de los fármacos sobre la actividad cardíaca.

Para ello, hemos realizado 20181 simulaciones unidimensionales para obtener la prolongación del QT producida por fármacos que pueden bloquear la componente rápida y la lenta de la corriente diferida de potasio (I_{Kr} e I_{Ks}) y la corriente de calcio que circula por los canales tipo-L (I_{CaL}) en un amplio rango de concentraciones utilizando el modelo más actual de potencial ventricular humano (O'Hara et al.). Además, hemos definido un nuevo biomarcador (Tx) como el cociente entre la concentración que provoca un 10% en la prolongación del intervalo QT y la concentración terapéutica de un compuesto. Este biomarcador se ha obtenido para 12 compuestos conocidos (6 cardiotoxicos y 6 seguros). Al utilizar el Tx para valorar la cardiotoxicidad de los fármacos se han clasificado correctamente 10 de los 12 compuestos, mientras que con el IC_{50} del hERG, uno de los indicadores actuales, se acierta en 8 de los 12 compuestos. En conclusión, el uso del índice Tx aquí propuesto podría mejorar la predicción de la cardiotoxicidad en las fases tempranas del desarrollo de nuevos fármacos.

1. Motivación.

En las últimas décadas se han relacionado numerosos fármacos con la aparición de arritmias cardíacas muy peligrosas conocidas como Torsade de pointes (TdP) [1]. El bloqueo de un canal iónico, el hERG, presente en la membrana de los cardiomiocitos y responsable de la componente rápida de la corriente diferida de potasio (I_{Kr}), ha sido relacionado con ellas debido a que prolonga el segmento QT del electrocardiograma (ECG) [2, 3]. Estos hallazgos han llevado a las entidades reguladoras a considerar el efecto sobre el hERG como un indicador precoz de proarritmicidad durante el desarrollo de fármacos noveles. Sin embargo, el uso de este marcador no viene exento de una proporción importante de falsos positivos y negativos que pueden ocasionar importantes pérdidas económicas [4].

El avance en la tecnología computacional ha permitido la implementación de modelos matemáticos del funcionamiento cardíaco. Gracias a ellos se ha demostrado que la concentración terapéutica o la inclusión del efecto sobre otros canales iónicos mejoran notablemente la predicción de la cardiotoxicidad de los

fármacos [6 – 10]. Diversas iniciativas internacionales hayan adoptado el uso de modelos *in silico* como medio para comprender y explicar los mecanismos de cardiotoxicidad [2].

El objetivo principal de este trabajo es crear un nuevo biomarcador de cardiotoxicidad superior al uso únicamente del bloqueo potencial del hERG, que combine el efecto de los fármacos sobre diversos canales iónicos y las concentraciones terapéuticas. Para lograrlo, se simulan 20181 intervalos QT utilizando el modelo de O'Hara-Rudy (ORdM) [5] para distintos bloqueos de tres corrientes (I_{Kr} , I_{Ks} e I_{CaL}) en función de la concentración terapéutica. Se obtiene la clasificación de 12 compuestos en función de un nuevo biomarcador (Tx) y se compara su precisión con la que se obtiene del biomarcador estándar, el pIC_{50} respecto al hERG.

2. Material y métodos.

2.1. Simulación del intervalo QT.

Para estudiar el efecto de los compuestos sobre el intervalo QT, se modifican las conductancias de los canales de tres corrientes (I_{Kr} , I_{Ks} e I_{CaL}) tal y como describe el modelo del poro simple [10]:

$$G_i = G_0 \cdot \frac{1}{1 + \frac{[D_i]}{IC_{50}}}$$

donde G_0 es la conductancia inicial del canal, D_i es la concentración del compuesto e IC_{50} es la concentración del mismo que reduce la corriente del canal en un 50%.

La simulación del potencial de acción se obtiene utilizando el ORdM [5].

La fibra transmural del modelo se compone de 165 cardiomiocitos dividida en tres secciones: una primera sección de 60 células endocárdicas, una segunda de 45 células midmiocárdicas y una tercera de 60 células epicárdicas (véase figura 1). El estímulo se aplica en un extremo y el pseudo-electrocardiograma (pseudo-ECG) de la fibra se registra en un electrodo virtual alejado 2cm del otro extremo. El intervalo QT se mide como el tiempo entre el inicio del complejo QRS y el final de la onda T.

Se realizan las simulaciones necesarias para cubrir los rangos [-2, 1] (I_{Kr} e I_{Ks}) y [-2, 0] (I_{CaL}) de los $\log_{10}\left(\frac{[D_i]}{IC_{50}}\right)$ con una resolución de 0.1. Para cada una de ellas, se estabiliza el modelo durante 100 pulsos a una frecuencia de estimulación de 1Hz [11]. Luego, se introducen los

parámetros de bloqueo y se simula durante 10 pulsos más a la misma frecuencia. Las diferencias en los APD90 con simulaciones diez veces más largas fueron inferiores al 5%. El intervalo QT se mide en el último pulso de cada simulación y se introduce en la matriz 3D.

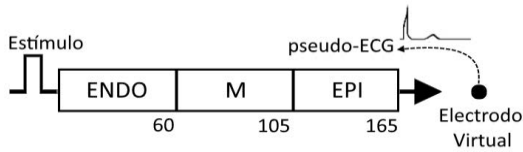


Figura 1. Esquema de la fibra 1D. Se muestra el número de la célula final de cada sección. El electrodo de registro del pseudo-ECG se sitúa a 2cm de la última célula.

El Tx de un compuesto se calcula como el cociente entre la concentración que prolonga el intervalo QT en un 10% y la concentración terapéutica.

2.2. Fármacos de estudio.

Para generar una base sobre la que evaluar tanto el Tx como el biomarcador estándar, el bloqueo del hERG, se reúne el perfil de 12 fármacos conocidos. Se recogen sus pIC₅₀ (-log₁₀(IC₅₀)) de los canales responsables de las corrientes I_{Kr} (hERG), I_{Ks} e I_{CaL}, sus concentraciones plasmáticas terapéuticas y su riesgo de cardiotoxicidad. Los parámetros finales de los fármacos son valores extraídos directamente de sus fichas técnicas, la mediana de los valores disponibles en Tox-Portal [12] o valores procedentes de artículos de repositorios disciplinares como Pubmed.

Compuesto	pIC ₅₀ hERG	pIC ₅₀ I _{Ks}	pIC ₅₀ I _{CaL}	[D] _i (nM)
Disopiramida	5 ^[12]	4.09 ^[12]	4.96 ^[12]	4700 ^[14]
Dronedarona	7 ^[12]	4.36 ^[12]	6.75 ^[15]	0.79 ^[14]
Flecainida	5.82 ^[7]	-	4.57 ^[7]	1448 ^[14]
Metadona	5.456 ^[7]	-	4.427 ^[7]	507 ^[7]
Terfenadina	6.87 ^[12]	5.36 ^[16]	6.51 ^[12]	269 ^[14]
Tioridazina	6.7 ^[12]	4.99 ^[12]	5.88 ^[12]	979 ^[6]
Diazepam	4.27 ^[7]	-	4.52 ^[7]	29 ^[7]
Ebastina	6.33 ^[12]	4.93 ^[12]	6.93 ^[12]	0.4 ^[17]
Lamotrigina	3.6 ^[10]	3.8 ^[10]	2.8 ^[10]	19083 ^[9]
Nifedipino	3.56 ^[12]	3.44 ^[12]	7.28 ^[12]	24.9 ^[18]
Nisoldipino	4.64 ^[19]	4.4 ^[12]	7.1 ^[12]	0.13 ^[20]
Raltegravir	3.11 ^[7]	4.6 ^[6]	3.61 ^[7]	7000 ^[7]

Tabla 1. Datos de pIC₅₀ de hERG, I_{Ks} e I_{CaL} y concentraciones plasmáticas terapéuticas de los 12 compuestos. Las referencias aparecen entre corchetes.

La clasificación de Crediblemeds, la web del AZCERT [13], se toma como referencia para evaluar la precisión de ambos biomarcadores. Para poder comparar los resultados, la clasificación en 4 grupos que propone el

AZCERT se simplifica a “TdP+” (grupos 1 y 2) y “TdP-” (grupos 3 y 4).

3. Resultados.

En la tabla 1 se resumen los datos referentes a los 12 compuestos estudiados, su nombre, su pIC₅₀ para las corrientes I_{Kr} (hERG), I_{Ks} e I_{CaL} y su concentración terapéutica. No se han encontrado pIC₅₀ respecto a la corriente I_{Ks} en los casos de Flecainida, Metadona y Diazepam, por lo que se asume que no interaccionan con dicho canal.

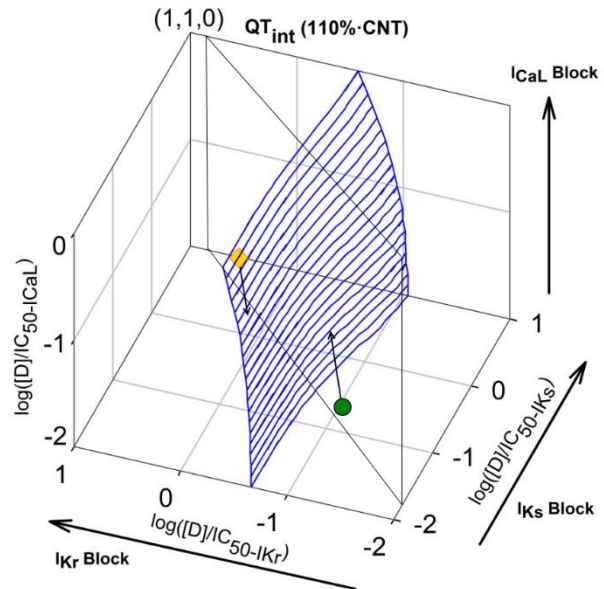


Figura 2. Matriz 3D construida con los intervalos QT obtenidos del modelo de O’Hara-Rudy en 1D. En azul, la frontera del 10% de prolongación del intervalo QT control. Compuestos a concentración terapéutica: Lamotrigina (círculo verde), Disopiramida (rombo amarillo). Las flechas adheridas representan el proceso de cálculo del Tx.

Se construye una matriz 3D con los intervalos QT de las 20181 simulaciones (aproximadamente 2 semanas de funcionamiento en un clúster de 64 procesadores a 2.3 GHz). En la figura 2 se representa la superficie azul que corresponde a la frontera del 10% de prolongación del intervalo QT respecto al QT en control. Los compuestos cuyas coordenadas aparecen a la derecha de dicha frontera producen una prolongación del intervalo QT inferior al 10%, al contrario que los que aparecen a la izquierda.

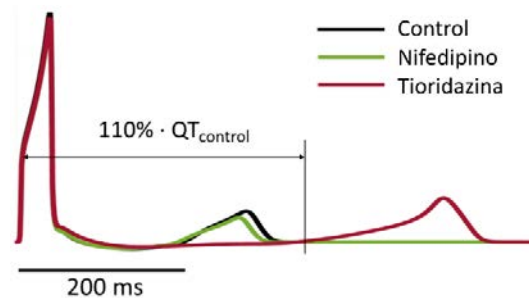


Figura 3. Simulación del pseudo-ECG en control (negro), en presencia de 24.9 nM de Nifedipino (verde) y 979 nM de Tioridazina (rojo). Se muestra el intervalo equivalente al 10% de prolongación del QT control.

En la *figura 3* se representan los pseudo-ECG correspondientes a Nifedipino (verde) y Tioridazina (rojo) junto al control (negro, QT = 313ms). El intervalo QT se ve prolongado en el caso de Tioridazina debido a su intenso bloqueo del hERG ($pIC_{50}(I_{Kr}) = 6.7$; QT = 563ms), mientras que sufre un acortamiento en el caso de Nifedipino debido al efecto predominante del canal de calcio tipo L ($pIC_{50}(I_{CaL}) = 7.28$; QT = 302ms).

Los Tx de los 12 compuestos se muestran en la *tabla 2* junto con sus pIC_{50} de hERG y sus clasificaciones de riesgo proarrítmico según la clasificación del AZCERT.

Compuesto	TdP	pIC_{50} hERG	Tx
Disopiramida	+	5	0.5
Dronedarona	+	7	32
Flecainida	+	5.82	0.2
Metadona	+	5.46	1.3
Terfenadina	+	6.87	0.1
Tioridazina	+	6.7	0.05
Diazepam	-	4.27	800
Ebastina	-	6.33	501
Lamotrigina	-	3.6	2.5
Nifedipino	-	3.56	4000
Nisoldipino	-	4.64	80000
Raltegravir	-	3.11	25

Tabla 2. Riesgo de producir TdP de los 12 compuestos según la página del AZCERT, pIC_{50} respecto al hERG y Tx, el nuevo biomarcador.

Estos valores se representan en la *figura 4* para facilitar su interpretación. Los compuestos TdP- aparecen en verde, mientras que los TdP+ lo hacen en naranja. El panel A de la figura representa los pIC_{50} de hERG. La barra vertical corresponde al valor de corte utilizado por las agencias reguladoras para evaluar la toxicidad de los compuestos durante su desarrollo.

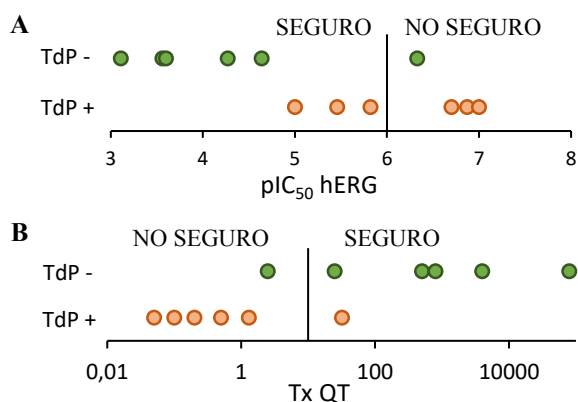


Figura 4. Representación (A) de los pIC_{50} de cada compuesto en escala lineal y (B) sus respectivos Tx en escala logarítmica. La barra vertical es el punto de corte para cada biomarcador.

La clasificación resultante detectaría como verdaderos positivos al 50% (Terfenadina, Tioridazina y Dronedarona) de los compuestos considerados TdP+ y como falsos negativos a Disopiramida, Flecainida y Metadona. Asimismo, se detectarían el 84% de los compuestos TdP- (fallando únicamente en el caso de Ebastina).

En el panel B se representan los valores de Tx obtenidos a partir de las simulaciones del pseudo-ECG. Atendiendo a la distribución de los datos, se establece una frontera buscando la mejor clasificación de los compuestos. Debido a que Dronedarona (TdP+, Tx=32) y Lamotrigina (TdP-, Tx=2.5) crean un solapamiento entre los rangos de Tx de ambos grupos, el valor de Tx frontera se sitúa finalmente en 10, de forma que estos dos compuestos sean los únicos que no coincidan con la clasificación del AZCERT, alcanzando un 84% de aciertos tanto para fármacos TdP+ como TdP-.

4. Discusión y conclusiones.

La matriz 3D generada, que se compone de un gran número de simulaciones en un modelo de cardiomiocito humano complejo y actual, ha sido concebida para agilizar el asesoramiento de la cardiotoxicidad de compuestos en fases tempranas de desarrollo. Con este método que requiere cuatro parámetros sencillos, se podría reducir el tiempo de pruebas de laboratorio y ensayos clínicos necesarios para ello.

A pesar del número reducido de compuestos, el uso del Tx muestra una mejora en la sensibilidad respecto al biomarcador estándar. Los compuestos TdP- muestran además valores de Tx mucho más elevados que los compuestos TdP+. Esto se traduce en una diferenciación más clara de los grupos a través de una polarización de los datos.

Como limitaciones de este trabajo se podrían citar la simplicidad del modelo de poro simple y la falta de una farmacocinética real que comunique las concentraciones plasmáticas con las que efectivamente ejercen el bloqueo de los canales. Además, la disparidad de los protocolos de obtención de pIC_{50} en la literatura (variaciones en la temperatura, animal, protocolo, etc.) también contribuye a difuminar los resultados. En definitiva, el Tx es un biomarcador sencillo, de fácil obtención y uso inmediato ya que no requiere simulaciones adicionales y que, combinando los hallazgos de trabajos anteriores [6 – 10], muestra una mejora en la sensibilidad de la detección de compuestos cardiotoxicos respecto al biomarcador actual. Con el debido entrenamiento, el Tx podría constituir una herramienta útil en la predicción de la cardiotoxicidad inducida por fármacos.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad y por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) DPI2015-69125-R (MINECO/FEDER, UE) y por la Generalitat Valenciana, Programa Prometeo: 2016/088.

Referencias

- [1] T. G. Hammond, L. Carlsson, A. S. Davis, W. G. Lynch, I. MacKenzie, W. S. Redfern, A. T. Sullivan, and A. J. Camm, "Methods of collecting and evaluating non-clinical cardiac electrophysiology data in the pharmaceutical industry: results of an international survey.," *Cardiovasc. Res.*, vol. 49, no. 4, pp. 741–50, Mar. 2001.
- [2] P. T. Sager, G. Gintant, J. R. Turner, S. Pettit, and N. Stockbridge, "Rechanneling the cardiac proarrhythmia safety paradigm: A meeting report from the Cardiac Safety Research Consortium," *Am. Heart J.*, vol. 167, no. 3, pp. 292–300, Mar. 2014.
- [3] D. M. Roden, "Cellular basis of drug-induced torsades de pointes.," *Br. J. Pharmacol.*, vol. 154, no. 7, pp. 1502–7, Aug. 2008.
- [4] C. P. Adams and V. V. Brantner, "Spending on new drug development1.," *Health Econ.*, vol. 19, no. 2, pp. 130–41, Feb. 2010.
- [5] C. Obiol-Pardo, J. Gomis-Tena, F. Sanz, J. Saiz, and M. Pastor, "A multiscale simulation system for the prediction of drug-induced cardiotoxicity," *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 51, no. 2, pp. 483–492, Feb. 2011.
- [6] G. R. Mirams, Y. Cui, A. Sher, M. Fink, J. Cooper, B. M. Heath, N. C. McMahon, D. J. Gavaghan, and D. Noble, "Simulation of multiple ion channel block provides improved early prediction of compounds' clinical torsadogenic risk," *Cardiovasc. Res.*, vol. 91, no. 1, pp. 53–61, 2011.
- [7] J. Kramer, C. A. Obejero-Paz, G. Myatt, Y. A. Kuryshev, A. Bruening-Wright, J. S. Verducci, and A. M. Brown, "MICE Models: Superior to the HERG Model in Predicting Torsade de Pointes," *Sci. Rep.*, vol. 3, pp. 1–7, Jul. 2013.
- [8] W. S. Redfern, L. Carlsson, A. S. Davis, W. G. Lynch, I. MacKenzie, S. Palethorpe, P. K. S. Siegl, I. Strang, A. T. Sullivan, R. Wallis, A. J. Camm, and T. G. Hammond, "Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsade de pointes for a broad range of drugs: Evidence for a provisional safety margin in drug development," *Cardiovasc. Res.*, vol. 58, no. 1, pp. 32–45, 2003.
- [9] G. Gintant, "An evaluation of hERG current assay performance: Translating preclinical safety studies to clinical QT prolongation," *Pharmacol. Ther.*, vol. 129, no. 2, pp. 109–119, Feb. 2011.
- [10] G. R. Mirams, M. R. Davies, S. J. Brough, M. H. Bridgland-Taylor, Y. Cui, D. J. Gavaghan, and N. Abi-Gerges, "Prediction of Thorough QT study results using action potential simulations based on ion channel screens," *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, vol. 70, no. 3, pp. 246–254, Jan. 2014.
- [11] T. O'Hara, L. Virág, A. Varró, and Y. Rudy, "Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: Model formulation and experimental validation," *PLoS Comput. Biol.*, vol. 7, no. 5, p. e1002061, May 2011.
- [12] "Tox Portal." [Online]. Available: www.tox-portal.net.
- [13] R. Woosley and K. Romero, "www.Crediblemeds.org, QTdrugs List, AZCERT, Inc. 1822 Innovation Park Dr., Oro Valley, AZ 85755." .
- [14] "DailyMed." [Online]. Available: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/index.cfm>.
- [15] A. Varró, J. Takács, M. Németh, O. Hála, L. Virág, N. Iost, B. Baláti, M. Agoston, A. Vereckei, G. Pastor, M. Delbruyère, P. Gautier, D. Nisato, and J. G. Papp, "Electrophysiological effects of dronedarone (SR 33589), a noniodinated amiodarone derivative in the canine heart: comparison with amiodarone.," *Br. J. Pharmacol.*, vol. 133, no. 5, pp. 625–34, 2001.
- [16] A. E. Lacerda, J. Kramer, K. Z. Shen, D. Thomas, and a. M. Brown, "Comparison of block among cloned cardiac potassium channels by non-antiarrhythmic drugs," *Eur. Hear. Journal, Suppl.*, vol. 3, no. K, pp. 23–30, 2001.
- [17] P. Chaikin, M. S. Gillen, M. Malik, H. Pentikis, G. R. Rhodes, and D. J. Roberts, "Co-administration of ketoconazole with H1-antagonists ebastine and loratadine in healthy subjects: pharmacokinetic and pharmacodynamic effects.," *Br. J. Clin. Pharmacol.*, vol. 59, no. 3, pp. 346–54, 2005.
- [18] C. Edwards, S. Monkman, S. Cholerton, M. D. Rawlins, J. R. Idle, and R. E. Ferner, "Lack of effect of co-trimoxazole on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of nifedipine.," *Br. J. Clin. Pharmacol.*, vol. 30, no. 6, pp. 889–891, 1990.
- [19] S. Missan, P. Zhabyeyev, O. Dyachok, S. E. Jones, and T. F. McDonald, "Block of cardiac delayed-rectifier and inward-rectifier K⁺ currents by nisoldipine.," *Br. J. Pharmacol.*, vol. 140, no. 5, pp. 863–70, 2003.
- [20] A. K. Baksi, J. S. Edwards, and G. Ahr, "A comparison of the pharmacokinetics of nisoldipine in elderly and young subjects," pp. 367–370, 1991.

Populations of models: A new approach for understanding the mechanisms of atrial fibrillation

A. Liberos¹, A. Bueno-Orovio², M. Rodrigo³, U. Ravens⁴, I. Hernandez^{1,5}, F. Fernandez-Aviles¹, M.S. Guillem³, B. Rodriguez^{2*}, A.M. Climent^{1*}

¹Cardiology Department, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, Spain, alejandro.liberos@iisgm.com, acliment@cardiovascularcelltherapy.com

²Department of Computer Science, University of Oxford, Oxford, UK, blanca.rodriguez@cs.ox.ac.uk

³ITACA, Universitat Politècnica de València, València, Spain

⁴Department of Pharmacology and Toxicology, Technical University Dresden, Dresden, Germany

⁵Department of Signal Theory and Communications, Rey Juan Carlos University, Fuenlabrada, Madrid, Spain

*Equally contributing senior authors

Abstract

Inter-subject variability explains the diverging effects to pharmacological treatments of AF reported in the literature. A population of 173 mathematical models of remodeled human atrial tissue with realistic inter-subject variability was developed based on action potential recordings of 149 patients diagnosed with AF. The ranges of 6 biomarkers measured from the patch-clamp studies were appropriately covered. The resulting population shows that multiple combinations of variations in the ionic conductances result in AF models that cover the range of biomarkers measured experimentally.

Introducing restrictions associated with pacing rate limits the number of models, restricts calcium transient amplitudes, and shows significant differences in the distribution of variation of parameters associated with I_{Na} , I_{Kr} and I_{NaK} ionic currents. Populations of models will improve the development of new antiarrhythmic treatments preventing undesired effects associated with differences between individuals.

1. Motivations

Atrial Fibrillation (AF) is the most common cardiac arrhythmia, affecting more than 33 million people in the world and requiring 2% of the Spanish sanitary cost (1,545 million €/year), accordingly with other developed countries [1]. However, antiarrhythmic drugs have a modest efficacy at the time of terminating the arrhythmia and sustaining sinus rhythm [2]. Further research is thus needed to yield a deeper understanding of the ionic and structural mechanisms sustaining the arrhythmia.

Mathematical models are useful tools to evaluate hypotheses of AF perpetuation mechanisms and drug response, both in terms of action potential (AP) and rotors dynamics [3,4]. However, most of these in-silico studies use a single set of parameters fitted to the average of many experiments. Although this approach has allowed the reproduction and a better understanding of multiple AF mechanisms, it hides the variability between patients observed in the clinical practice [5,6]. It has been observed that AF remodeling and its interaction between ion channel currents depends on the underlying clinical scenario and genetics of each patient [6]. This variability may explain

contradictory responses to pharmacological treatments reported in the literature.

The aim of this study is to develop a realistic population of mathematical models of atrial cardiomyocytes that reproduce the inter-subject variability observed in patients. It may help in the understanding of the ionic mechanisms of AF, and will prevent from undesired effects associated with the development of new pharmacological treatments.

2. Methods

2.1. Experimental Dataset and Biomarkers

Right atrial appendages were obtained from 149 patients diagnosed with chronic AF and undergoing surgery for myocardial or mitral/aortic valve replacement revascularization. All experimental recordings were performed conforming the declaration of Helsinki, and the study was approved by the Ethics Committee of the Dresden University of Technology (N° EK790799). All patients gave written, informed consent. Antiarrhythmic medication was interrupted before the study [6].

Standard intracellular microelectrodes were used to record APs in atrial trabeculae of the samples described (n=215 of 149 patients) [2]. The preparations were stimulated at 1 Hz for 1 h before data acquisition. A subset of this database (n=9) was also recorded at different pacing frequencies of 1, 2, 3 and 4 Hz.

Variability in APs was quantified by the following biomarkers: APD (AP duration) at 20, 50, and 90% of repolarization (APD20, APD50, APD90 respectively), AP amplitude (APA), resting membrane potential (RMP) and AP plateau potential at 20% of APD90 (V20). Graphical representation of these parameters is given in Figure 1.

In addition to the 1Hz static biomarkers, a rate dependent biomarker (APDratio) was defined as the ratio between the APD at each pacing rate (i.e. 2, 3 and 4Hz) divided by the APD at 1 Hz. This biomarker was measured for each pacing rate both for APD50 and APD90, as they were the most sensitive biomarkers to the pacing.

Action Potential Biomarkers

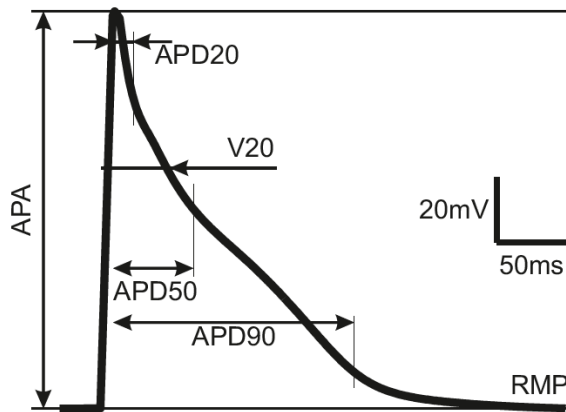


Figure 1. Representation of the biomarkers measured in this work: APD (AP duration) at 20, 50, and 90% of repolarization (APD20, APD50, APD90 respectively), AP amplitude (APA), resting membrane potential (RMP), and V20 the potential at 20% of APD90 (V20).

2.2. Electrophysiological Cellular Model

As a basis of the study, the human atrial myocyte model by Koivumaki et al [4] was used, with modifications to account for electrophysiological remodelling in chronic AF: I_{CaL} (-59%), I_{to} (-62%), I_{Kur} (-38%), I_{K1} (+62%), I_{NCX} (+50%), expression of SERCA (-16%) and PLB to SERCA (+18%) and SLN to SERCA (-40%). We will refer to this model as ‘baseline AF model’; the model with no modifications associated with the remodeling will be referred as ‘Koivumaki original sinus rhythm model’.

2.3. Population of Models

In order to model variability between subjects, a population of human atrial models was generated from the ‘baseline AF model’ described above, by varying from -100% to +200% of the original value the following parameters: g_{Na} , maximum I_{NaK} , g_{K1} , g_{CaL} , k_{NCX} , g_{to} , g_{Kur} , g_{Kr} , g_{Ks} as well as the expression of cpumps in SERCA and the availability of Ca^{2+} release channels from sarcoplasmic reticulum $J_{rel,RyR}$.

Latin Hypercube Sampling Method [7] was used to generate 16,384 combinations of the currents above. The method allows the generation of combinations of the $N=11$ parameters by means of sampling the N -dimensional space with a high resolution, efficiently and without bias. It is implemented by establishing the inferior and superior bounds and sampling the range in each parameter in $M=16,384$ intervals, which results in M^N locations. Then, M of these locations are randomly chosen meeting that, for each dimension N . In no case each interval is chosen more than once.

The resulting 16,384 unicellular models were simulated at different pacing frequencies: 1, 2, 3 and 4 Hz with square stimulus with duration 2 ms and amplitude 1250 pA, followed by negative amplitude during the inactive time interval to maintain current conservation in the model, and simulate the effect of neighboring cells in the tissue. Mathematical simulations were performed on the cardiac simulation GP-GPU platform [8]. APs from period 91 to

100 were stored at sampling frequency of 1kHz and used to measure the AP biomarkers described above.

A subset of the initial population of 16,384 mathematical models was selected by identifying those that satisfied physiological ranges of the biomarkers identified by using the experimental recordings. The identification of that subset of models was carried out in two different steps.

First, only those models for which biomarkers APD90, APD50, APD20, APA, RMP and V20 at 1 Hz remained restricted to the maximum and minimum values measured experimentally in the 215 APs were selected. To ensure biological depolarization transient, two extra constraints in biomarkers were introduced, the time between the stimuli and AP peak must be lower than 20 ms, whilst dV/dt_{max} higher than 20 V/s.

Next, with the aim to ensure that the resulting population reproduces the rate dependence of the experimental data, only those models that reproduced physiological rate dependence were selected. Specifically, linear regressions of APDratios vs APD at 1 Hz were computed for each frequency (2, 3 and 4 Hz) and biomarker (i.e. APD50 and APD90) in all samples recorded at different frequencies. The models that presented APDratios for APD90 and APD50 at 2, 3 and 4Hz within a standard deviation to the estimated regression were finally accepted (see Figure 3).

We will refer to the set of models which only satisfied the 1Hz biomarkers as the ‘1Hz population’, whereas the set of models that satisfied both the 1Hz and rate dependent biomarkers will be referred as ‘AF population’.

2.4. Statistical Analysis

Mann-Whitney U-test, which is robust against non-Gaussian distributions, was used to evaluate statistical significance between variables ($p < 0.01$).

3. Results

3.1. Experimental Dataset and Biomarkers

Minimum and maximum biomarker values, as measured at a pacing frequency of 1Hz, are presented in Table 1.

Minimum and maximum values of APD90 and APD50 in the subset recorded at different frequencies were: 167-236, 148-220, 134-199 and 121-176 ms in case of APD90 for 1, 2, 3 and 4 Hz, respectively; and 59-121, 65-118, 62-108, 56-96 ms in case of APD50. The rest of biomarkers did not exhibit significant changes due to the increase in pacing rate.

	Minimum Value.	Maximum Value
APD90(ms)	140	330
APD50(ms)	30	180
APD20(ms)	1	75
APA(mV)	80	130
RMP(mV)	-85	-65
V20(mV)	-30	20

Table 1. Minimum and maximum values of biomarkers at 1Hz.

3.2. Physiological AF Population of Mathematical Models

From the total of 16,384 mathematical models with different combinations of ion channels expressions that were analyzed, 945 models (5.76%) satisfied all the measured ranges of biomarkers at 1Hz (Table 1), and constituted our '1 Hz population'. From this, only 173 (1.06%) additionally met the rate dependence constraints and constituted our 'AF population'. Therefore, although a large number of ion channel combinations reproduced 1Hz patch-clamp experiments for a pacing rate of 1 Hz, only few of them were physiologically realistic in terms of pacing rate dependence.

In Figure 2, the variability of APs, calcium transients and biomarkers for the different groups is presented. In Figure 2A biomarkers for the simulated models, together with the experimental data are shown. Notice that the observed variability on experimental biomarkers is appropriately covered by the obtained populations of mathematical models. Figure 2B shows the coverage of APD50 and APD90 ratios for the experimental data, and the models in our '1 Hz' and 'AF' populations. It can be observed, both in experimental and simulated values, that the larger the APD at 1 Hz, the lower the APDratio. This reflects a pronounced shortening of the APD as a function of the pacing rate and baseline APD. Notice that many of the models in the '1 Hz population' do not reproduce the rate dependence as measured in the experimental recordings, which highlights the importance of calibrating the population at multiple pacing frequencies.

Figure 2C shows APs and calcium transients of all models in the populations. It is of note that imposition of only APD biomarkers at 1 Hz allows for the selection of a class of models with exacerbated calcium transients. However, imposition of rate-dependence biomarkers allowed discarding those models with possibly non physiological calcium transients.

Figure 3 shows the distribution of the variation in parameters for the 173 models that reproduced both 1Hz and rate dependent biomarkers (i.e. AF population) and those 945 models that reproduced only in the 1Hz biomarkers (i.e. 1Hz population). As a result of accounting for physiological variability, it is of note that most currents inside the 1 Hz and AF populations were not circumscribed to the midpoint of the simulated range (-100% to +200%) and showed median values that often diverged from the average baseline model. While the median values of g_{K1} and g_{Kur} matched with their baseline values, g_{Na} was clustered around lower values. On the other hand, g_{CaL} and k_{NCX} presented higher median values than the baseline model and closer to that of the control Koivumaki original sinus rhythm model.

The parameters that differed from 1 Hz and AF populations to a greater extent were g_{Na} , $I_{NaK,max}$ and g_{Kr} ($p < 0.01$). In particular, g_{Na} tended to be lower while $I_{NaK,max}$ and g_{Kr} tended to be larger to fulfill the imposed rate-dependence criteria. The largest variations were observed for I_{NaK} , which highlights its importance for AP rate adaptation, consistent with previous works [9].

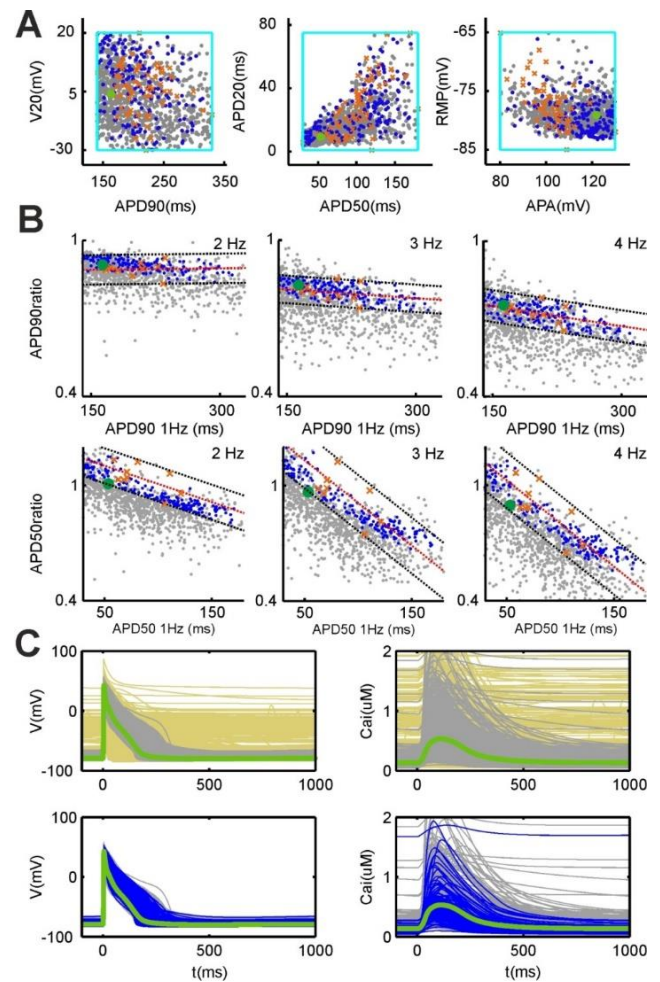


Figure 2. Population of models calibration and biomarkers. Green, yellow, blue and gray respectively represent: baseline AF model, all simulated models ($N=16384$), the 'AF population' obtained including rate dependence constraints ($N=173$), and those that only reproduced experimental data at 1Hz ($N=945$). A: Biomarkers values (V_{20} , APD_{20} , APD_{50} , APD_{90} , RMP and APA) in the populations at 1Hz; orange marks correspond with a random sort of values measured in experimental preparations; upper and lower bounds for 1 Hz biomarkers are marked in light blue. B: Calibration process at different pacing frequencies: only models within a standard deviation from regression lines (red lines) as observed in experimental measurements were accepted. APD ratios are plotted versus APDs at pacing frequencies 2, 3 and 4 Hz. C: APs and intracellular calcium transients in the resulting populations.

4. Discussion

A population of mathematical models of atrial tissues which mimics the inter-subject variability of AF patients including rate dependent response has been implemented.

Latin hypercube sampling allowed for an efficient sampling. After having established a wide population of models, AP biomarkers allowed us for a selection of ionic current combinations that result in APs covering the observed experimental range. However, reproduction of AP biomarkers at a single pacing rate does not account for the observed rate dependence of ionic currents. Cells with long basal APDs shorten their APDs under fast rates to a greater extent than those with shorter basal APDs.

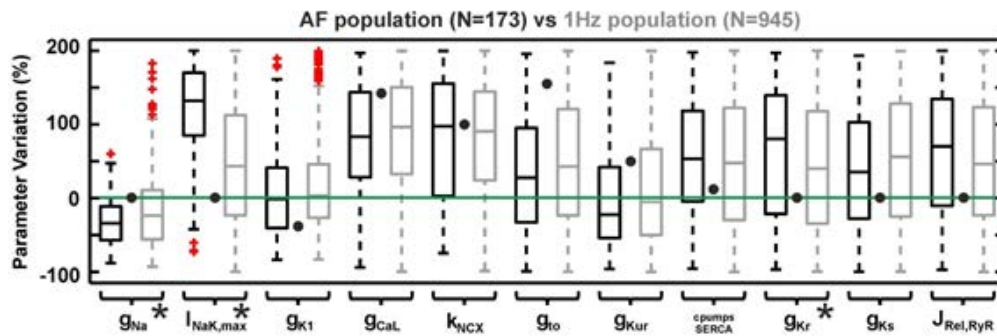


Figure 3. Boxplot of the ionic current parameter variations in the population of models. The boxplots in black correspond to the AF population (models that satisfied the constraints of biomarkers at 1Hz and the conditions of rate dependence). Gray boxes indicate the models only satisfying the constraints of biomarkers at 1Hz. The green line depicts the baseline values (i.e. the baseline AF model), while black dots represent the original Koivumaki model in sinus rhythm. A high variability in conductances covering the whole range of values (from -100% to 200%) can be observed. It is also observed how the most constrained current is I_{Na} , with bounds in overexpression and blockade of +65% and -90% respectively in the resulting population.

In order to account for this rate-dependence we have included restrictions in our database of models that reproduce this observed trend. It is of note that the introduction of these rate-dependence bounds, obtained from AP measurements, resulted in the rejection of models with exacerbated calcium transients. According to our results, the single most relevant parameter to account for this rate dependence was I_{NaK} , which is in accordance with previous reports [9].

Note how the ‘baseline AF model’ was close to the limits of the biomarkers ranges estimated from microelectrode recordings (APD90, APD50, APD20, APA, APD50ratio), which evidences that a single model may not be representative of the whole variability observed in AF. The population of models showed how a wide variability in ionic parameters reproduced physiological biomarkers. This variability has been useful to evaluate the effect of ionic currents in each biomarker and to better understand the effect of different currents in rotor dynamics [10]. The main limitation of the population presented is associated with the lack of samples from different areas of the atria. In this study, tissue samples were obtained from the right atrial appendage, and thus may not be representative of the entire atria.

Populations of models will improve viability studies in the development of new drug treatments, avoiding unexpected side effects associated to inter-subject variability.

Acknowledgements

Supported by: Spanish Ministry of Education (FPU2010); Wellcome Trust Fellowship 100246/Z/12/Z; Universitat Politècnica de València; the Spanish Health Research Fund (PI13/00903); Spanish Society of Cardiology; Spanish Ministry of Science; Generalitat Valenciana Grants (ACIF/2013/021) and Innovation (Red RIC, PLE2009-0152).

References

[1] Ball J, Carrington MJ, McMurray JJV, et al. Atrial fibrillation: Profile and burden of an evolving epidemic in the 21st century. *Int. J. Cardiol*, vol 167, sup 5, 2013, pp 1807-24 (ISSN: 0167-5273).

- [2] Wettwer E, Christ T, Endig S, et al. The new antiarrhythmic drug vernakalant: ex vivo study of human atrial tissue from sinus rhythm and chronic atrial fibrillation. *Cardiovasc. Res*, vol 98, 2013, pp 145-54 (ISSN: 0008-6363).
- [3] Pandit SV, Berenfeld O, Anumonwo JMB et al. Ionic determinants of functional reentry in a 2-D model of human atrial cells during simulated chronic atrial fibrillation. *Biophys. J*, vol 88, sup 6, 2005, pp 3806-21 (ISSN: 0006-3495).
- [4] Koivumaki JT, Seemann G, Maleckar MM et al. In Silico Screening of the Key Cellular Remodeling Targets in Chronic Atrial Fibrillation. *Plos Comput. Biol*, vol 10, sup 5, 2014, pp e1003620 (ISSN: 1553-7358).
- [5] Muszkiewicz A, Britton OJ, Gemell PM et al. Variability in cardiac electrophysiology: Using experimentally-calibrated populations of models to move beyond the single virtual physiological human paradigm. *Prog. Biophys. Mol. Biol*, vol 120, 2015, pp 115–27 (ISSN: 1873-1732).
- [6] Sanchez C, Bueno-Orovio A, Wettwer E et al. Inter-Subject Variability in Human Atrial Action Potential in Sinus Rhythm versus Chronic Atrial Fibrillation. *PLoS One*, vol 9, sup 8, 2014, pp e105897 (ISSN: 1932-6203).
- [7] Britton OJ, Bueno-Orovio A, Van Ammel K, et al. Experimentally calibrated population of models predicts and explains intersubject variability in cardiac cellular electrophysiology. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol 110, sup 23, 2013, pp E2098–E2105 (ISSN: 0027-8424).
- [8] Garcia-Molla VM, Liberos A, Vidal A, et al. Adaptive step ODE algorithms for the 3D simulation of electric heart activity with graphics processing units. *Comput. Biol. Med*, vol 44, 2014, pp 15–26 (ISSN: 0010-4825).
- [9] Bueno-Orovio A, Sánchez C, Pueyo E, et al. Na/K pump regulation of cardiac repolarization: insights from a systems biology approach. *Pflügers Arch. - Eur. J. Physiol*, vol 466, sup 2, 2014, pp 183–193 (ISSN: 0031-6768).
- [10] Liberos A, Bueno-Orovio A, Rodrigo M, et al. Balance between sodium and calcium currents underlying chronic atrial fibrillation termination: An in silico inter-subject variability study. *Heart Rhythm*, 2016, <http://dx.doi.org/10.1016/j.hrthm.2016.08.028> (ISSN: 2172-2183).

Sensores Biomédicos

Miércoles 23 de Noviembre

Desarrollo de un sensor potenciométrico de pH para el análisis *in situ* de fluidos biológicos

I. Arranz Bárcena¹, M. Santiago Behobide¹, E. Pérez Lorenzo¹, M. Mujika Garmendia¹, S. Arana Alonso¹

¹ CEIT y Tecnum, Universidad de Navarra, San Sebastián, España, {iarranz, msantiago, eperez, mmujika, sarana}@ceit.es

Resumen

Actualmente, las muestras de fluidos biológicos, tras ser extraídas del paciente, se mandan a analizar al laboratorio central del Hospital, lo cual es un proceso lento y costoso. Sin embargo, se está tendiendo cada vez más a utilizar dispositivos POCT (*Point of Care Testings*), que son puntos de análisis a pie de cama. De esta manera, se puede obtener un resultado mucho más rápido. Por lo tanto, con el fin de poder analizar el pH de dichas muestras *in situ*, se ha desarrollado el sensor que aquí se presenta para su posterior implementación en un dispositivo POCT. Se trata de un microsensar potenciométrico desechable de tres electrodos, desarrollado mediante microtecnologías y la implementación de una membrana polimérica de polipirrol. Se han desarrollado dos diseños distintos y se ha estudiado cuál de los dos ofrece mejores prestaciones, llegando a obtener una sensibilidad de aproximadamente 3mV por cada 0,1 de pH y una variabilidad en las medidas del 2%.

1. Introducción

En el cuerpo humano, concretamente en los distintos fluidos biológicos que lo componen y que ayudan al correcto funcionamiento del organismo, el pH es un factor clave. Este es el parámetro que indica el nivel de acidez o alcalinidad de dichos fluidos. Cada fluido posee un valor de pH concreto (Figura 1) y una variación puede generar o ser el reflejo de la aparición de enfermedades, infecciones etc. En la sangre, por ejemplo, cuyo valor de pH óptimo está comprendido entre 7,35 y 7,45, en el caso de que éste se acidifique o alcalinice demasiado puede dar lugar incluso a fallecimiento.

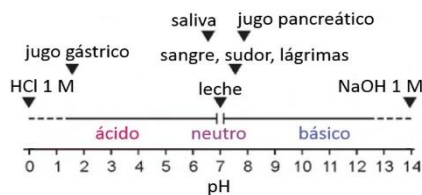


Figura 1. Valores de pH típicos de fluidos corporales. Adaptado de [1]

Hoy en día, son dos los principales métodos para realizar medidas de pH. El primero y más simple es el método colorimétrico, mediante la utilización de papeles indicadores. Estos consisten en tiras de papel absorbente impregnadas con sustancias que cambian de color en función del pH. Para ello, simplemente hay que mojar el papel en la muestra a estudiar y comparar el color obtenido con la escala patrón correspondiente a dicha tira. Se trata de un método sencillo, pero poco preciso. [2]

El segundo método es el potenciométrico, que consiste en medir diferencias de potencial. [2] Para ello se utilizan dos electrodos. Por un lado, el electrodo de referencia, cuyo potencial es constante y conocido. Por el otro, el electrodo de trabajo, que es sensible a los iones de hidrógeno. De esta manera, en función de la concentración de H^+ presente en la muestra a analizar, la diferencia de potencial variará y midiendo esta con la ayuda de un potenciómetro, se podrá obtener el valor de pH correspondiente. Este método, al contrario que el colorimétrico, ofrece resultados mucho más precisos. De hecho, todos los equipos de medición de pH, como por ejemplo los utilizados en los laboratorios clínicos para el análisis de fluidos biológicos, están basados en dicho método [3].

Actualmente en los hospitales, cuando un médico desea saber el valor de pH de algún fluido biológico, lo que se hace es obtener una muestra y mandarla al laboratorio para su posterior análisis. Este proceso es bastante lento, no solo porque la muestra tiene que llegar desde la habitación del paciente al laboratorio, sino porque una vez allí puede que tenga que esperar hasta ser analizada por falta de equipamiento o personal disponible en ese momento.

Además, estos equipos son grandes, costosos y requieren de un mantenimiento adecuado de los electrodos para asegurar su correcto funcionamiento. Por ello, a día de hoy se está tendiendo a utilizar cada vez más dispositivos POCT (*Point of Care Testings*). Los POCT son puntos de análisis a pie de cama que permiten el análisis *in situ* de determinadas muestras, ofreciendo un resultado más rápido que de la manera tradicional. Algunos ejemplos de los dispositivos de este tipo más utilizados son los empleados para el análisis de glucosa en sangre, la coagulación o el análisis de drogas. [4]

Es aquí por tanto donde entra en juego el sensor de pH detallado en el presente artículo. Consiste en un sensor potenciométrico de tres electrodos para la monitorización *in situ* de pH en muestras de fluidos biológicos.

Desarrollado mediante microtecnologías, se trata de un sensor desechable para su integración en un dispositivo POCT. De esta manera, se reducen los tiempos de espera hasta la obtención del resultado, puesto que el análisis se realiza a pie de cama nada más obtener la muestra. Esto ayuda a realizar no solo un diagnóstico más rápido, sino también más preciso, ya que se minimiza el riesgo de que se degrade la muestra (tal y como puede ocurrir en el trayecto al laboratorio).

Además se reducen costes tanto del dispositivo en sí como del mantenimiento de los electrodos al tratarse de un equipo mucho más pequeño, sencillo y con sensores desechables.

Su principio de funcionamiento está basado en la utilización de membranas poliméricas [5], una técnica prometedora para la monitorización de distintos parámetros como pueden ser la glucosa, el lactato o el oxígeno disuelto, entre muchos otros, además del ya mencionado pH.

2. Material y métodos

El sensor consiste en una metalización sobre una oblea de silicio, que posteriormente ha sido funcionalizada añadiendo una membrana polimérica al electrodo de trabajo.

2.1. Diseños

Se han creado dos diseños diferentes de sensores para los cuales se han utilizado técnicas de CAD (Figura 2). Ambos tienen geometría interdigitada y están compuestos por tres electrodos. Los de trabajo (indicado con WE en la Figura 2) y referencia (indicado con RE en la Figura 2) tienen dos partes, que son la pista de contacto y el electrodo interdigitado, mientras que el contraelectrodo (indicado con CE en la Figura 2) no tiene parte interdigitada.

La principal diferencia entre ambos es la geometría de los electrodos de trabajo y referencia. En el primero de los diseños, la unión entre la pista de contacto y el electrodo interdigitado se da desde la parte inferior y con una apertura hacia la zona de los dientes de igual tamaño a lo largo de todo el electrodo. En el segundo, en cambio, la unión se da lateralmente y la apertura es progresiva.

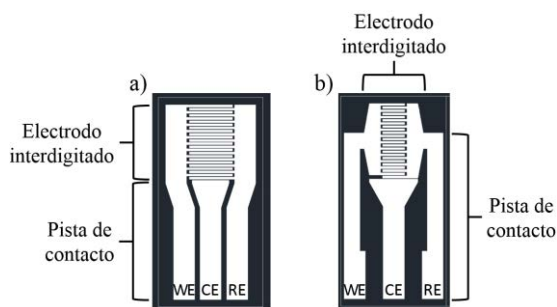


Figura 2. Diseños de CAD de los dos sensores desarrollados. a) Primer diseño. b) Segundo diseño. WE: electrodo de trabajo; CE: contraelectrodo; RE: electrodo de referencia.

En cuanto a las dimensiones, estos dispositivos tienen un tamaño total de 10x20mm, mientras que la anchura de los dientes del interdigitado es de 200µm y el espaciado entre ellos 100µm.

2.2. Fabricación de los microelectrodos

La fabricación de los sensores se ha realizado en ambiente de sala limpia mediante técnicas de fotolitografía/lift-off y depósito de películas delgadas por *sputtering* (PVD).

Como sustrato se han utilizado obleas de silicio oxidadas térmicamente y para la metalización de los electrodos se ha escogido el platino para el electrodo de trabajo y el contraelectrodo, mientras que para el electrodo de

referencia se han fabricado prototipos con plata y con platino. Esto se ha hecho con el fin estudiar cuál de los dos ofrece mejores resultados, ya que la plata se suele utilizar comúnmente para el RE [3,5] pero no así el platino.

2.3. Depósito membrana polipirrol

La funcionalización del sensor, en este caso con el objetivo de poder medir iones de hidrógeno (H^+) y por consiguiente pH, consiste en la electropolimerización de un monómero llamado pirrol (Figura 3.a) sobre el electrodo de trabajo del sensor. Para ello, se ha optado por utilizar una técnica electroquímica, más concretamente voltametría cíclica. De esta manera, aplicando sobre el sensor ciclos de voltaje que van de 0,2 a 3V, sumergido éste a su vez en una solución electrolítica que contenga pirrol, se consigue polimerizar el monómero, dando lugar al polipirrol (Figura 3.b), y que éste se adhiera sobre la superficie del sensor. Así, se consigue tener la membrana de polipirrol adherida al electrodo de trabajo.

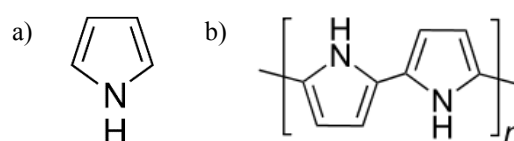


Figura 3. Estructura química de a) pirrol [5] y b) polipirrol [7].

Para la realización de estos procesos se ha utilizado un potenciostato-galvanostato Autolab, modelo PGSTAT128N, controlado mediante un ordenador por el software NOVA. En cuanto a la solución electrolítica, está compuesta por pirrol y KCl, ambas a 0,1M, en un tampón fosfato salino (pH 7,4).

2.4. Caracterización

Para la caracterización estructural de los sensores, tanto para la película de plata o platino depositada en sala limpia, como para la membrana de polipirrol adherida después a esta última, se han utilizado técnicas ópticas y de perfilometría. De esta manera, se han podido estudiar la rugosidad, la homogeneidad y el espesor de las películas depositadas.

Para la caracterización topográfica, se ha utilizado un perfilómetro *KLA-Tencor* modelo P6, el cual permite realizar barridos de hasta 60mm de longitud de escaneo en X e Y y 131µm de escaneo en Z. Además, se pueden obtener imágenes en 2D y 3D.

Por otro lado, para la caracterización óptica, además de utilizar la cámara propia del perfilómetro, se ha utilizado un microscopio estereoscópico modular Leica M60, junto con una cámara digital autónoma Leica IC80 HD integrada en el mismo y una fuente de luz fría LED Leica KL200 LED.

2.5. Medidas pH

Además de la topografía de los electrodos, también se ha estudiado el funcionamiento y respuesta de los sensores ante variaciones de pH, mediante una caracterización potenciométrica. Para ello, se ha utilizado un multímetro digital Keithley modelo 2100, junto con el software KI-Tool de la misma empresa. Gracias a esto, se han conseguido medir y registrar, para su posterior análisis, las

variaciones en la diferencia de potencial presentes entre los electrodos de referencia y trabajo del sensor a la hora de introducir el sensor en muestras de diferente pH.

Las muestras de pH utilizadas son muestras sintéticas creadas en el laboratorio añadiendo NaOH y HCl, para alcalinizar o acidificar respectivamente, a un tampón fosfato salino (pH 7,4). Para ajustar el pH de estas muestras se ha utilizado el pH-metro GLP 21+ de Crison.

Las medidas realizadas han consistido en barridos cíclicos de pH utilizando muestras con distintos valores de pH, concretamente 3 muestras con pH igual a 6,5; 7 y 7,5; rango en el que estarán comprendidos los valores de pH de muchos de los fluidos biológicos. Para cada muestra, su valor de tensión correspondiente está tomado a los 2 minutos de empezar la medida, cuando ésta ya se ha estabilizado.

El potencial varía en función del pH de la muestra, gracias a la membrana de polipirrol. Por lo tanto, conociendo el valor de pH de la muestra y los valores de voltaje obtenidos en cada una de ellas, se puede caracterizar y obtener una recta de calibración propia de dicho sensor.

3. Resultados y discusión

Partiendo de una oblea de silicio oxidada térmicamente y tras los procesos de fabricación llevados a cabo en sala limpia explicados anteriormente, se obtienen los sensores que se pueden ver a continuación (Figura 4), siendo aproximadamente 200nm el espesor del platino y 400nm el de la plata, materiales de los que están compuestos los electrodos.

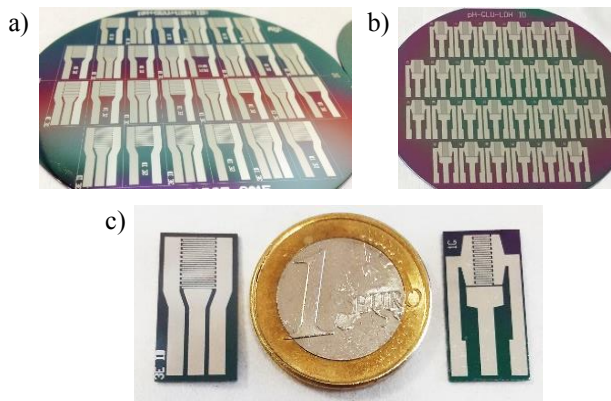


Figura 4. Obleas con los sensores ya fabricados del a) primer diseño y b) segundo diseño, después de la fabricación en sala limpia. c) Comparativa de los sensores con una moneda de 1€ para apreciar el tamaño de éstos.

Una vez fabricados, el siguiente paso es la funcionalización, consistente en la electropolimerización del pirrol. En este punto, se ha visto que los electrodos de referencia fabricados en plata no soportan el proceso de voltametría cíclica y se terminan quemando (Figura 5.a), mientras que los de platino no sufren ningún desperfecto (Figuras 5.b y 5.c). Por lo tanto, se descarta la plata para los electrodos de referencia, pasando a ser los tres electrodos del sensor de platino.

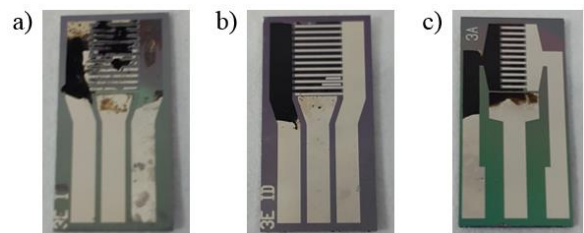


Figura 5. Resultado tras la funcionalización de los sensores. Las zonas negras en el WE son las que tienen la membrana de polipirrol. a) Primer diseño con RE de plata. b) Primer diseño con RE de platino. c) Segundo diseño con RE de platino.

Tras el proceso electroquímico se ha conseguido adherir al electrodo de trabajo una membrana de polipirrol con un espesor promedio de 3µm (Figura 6), siendo el espesor de la membrana muy similar para cada uno de los dos diseños de sensores.

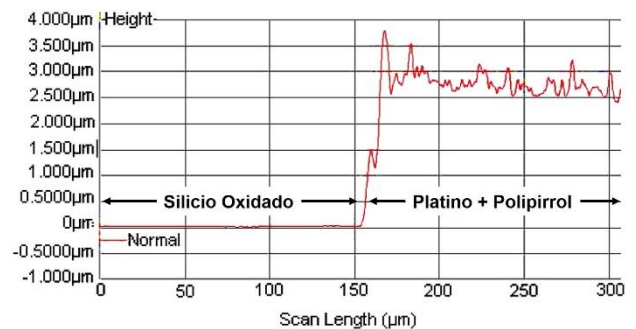


Figura 6. Perfil de la medida de espesor de la membrana de polipirrol

Sin embargo, el rendimiento del proceso de funcionalización se ha duplicado con el segundo diseño respecto del primero. Este índice hace referencia al porcentaje de procesos de depósito de polipirrol que han sido satisfactorios, es decir, aquellos en los que la membrana está distribuida homogéneamente por todo el electrodo de trabajo. Concretamente, se ha pasado de un índice del 32% a uno del 63%. Las características geométricas del segundo diseño, es decir, que la unión entre la pista de contacto y el electrodo interdigitado se da lateralmente y con una apertura progresiva hacia la zona de los dientes, hace que se mejore la distribución de corrientes a lo largo de todo el electrodo interdigitado (Figura 7), consiguiéndose así una distribución más homogénea.

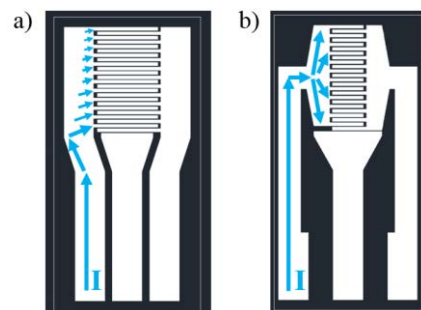


Figura 7. Las flechas indican cómo se distribuye la corriente a lo largo del electrodo interdigitado de trabajo en a) primer y b) segundo diseño.

Una vez funcionalizados y caracterizados los sensores, se han realizado las medidas de pH con el fin de estudiar el funcionamiento y respuesta de los sensores. En el caso del primer diseño, se puede observar cómo el sensor genera un potencial distinto para cada muestra de pH, siendo este mayor en la muestra más ácida y menor en la más básica (Figura 8.a). Esto se debe a la mayor concentración de H^+ presente en las muestras más ácidas.

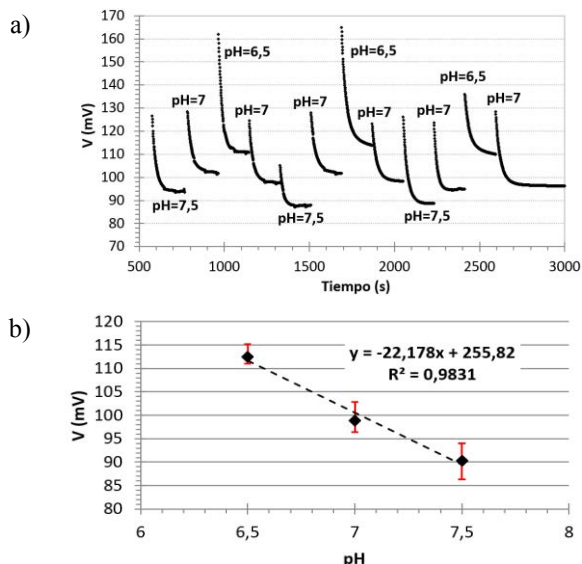


Figura 8. a) Resultado de la medida de pH realizada con el sensor del primer diseño. b) Recta de calibración del sensor.

A partir del promedio de estas medidas, se ha obtenido la recta de calibración correspondiente (Figura 8.b). El coeficiente de correlación (0,9831) indica una buena linealidad del sensor frente a muestras de distintos valores de pH. Por otro lado, la pendiente indica que el sensor muestra una variación de aproximadamente 2mV por cada 0,1 de pH, lo cual es una variación significativa y fácilmente medible. Además, la variabilidad de los valores obtenidos en los distintos ciclos para cada muestra es de media del 3%.

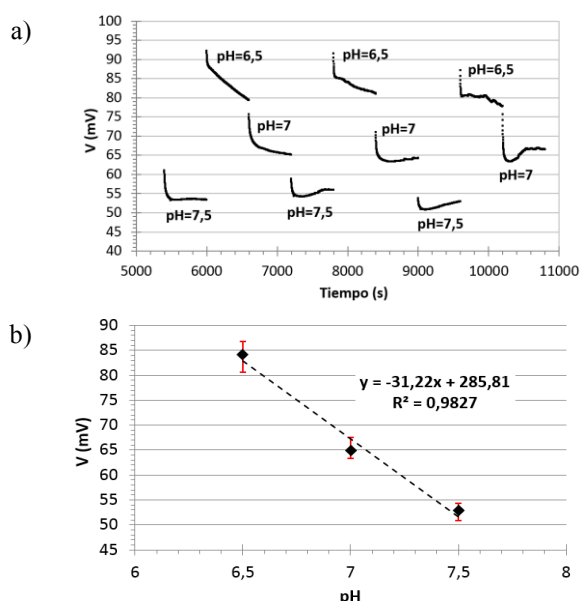


Figura 9. a) Resultado de la medida de pH realizada con el sensor del segundo diseño. b) Recta de calibración del sensor.

En cuanto al segundo diseño, ofrece una respuesta similar al primero, generando un potencial distinto para cada muestra de pH, siendo este mayor en la muestra más ácida y viceversa (Figura 9.a). Además, el coeficiente de correlación (0,9827) es prácticamente el mismo. Sin embargo, fijándose en la curva de calibración (Figura 9.b) se pueden observar dos mejoras sustanciales.

En primer lugar, la pendiente ha aumentado considerablemente, pasando de tener una variación aproximada de 2mV por cada 0,1 de pH a ser de aproximadamente 3mV, es decir, la sensibilidad del sensor ha aumentado un 40%. Asimismo, la variabilidad de los valores obtenidos en los distintos ciclos para cada muestra ha disminuido notablemente, pasando del 3% al 2%, la cual significa que la precisión del sensor ha aumentado un 33%.

4. Conclusiones

Mediante microtecnologías y la utilización de una membrana polimérica de polipirrol, se ha conseguido desarrollar un sensor potenciométrico desechable de pH, de dimensiones 10x20cm, compuesto por tres electrodos de platino. De los dos diseños de sensores desarrollados, el que presenta una apertura gradual de la pista al electrodo interdigitado es el que ofrece mejores resultados. En comparación al otro sensor, con este se consigue:

- Duplicar el rendimiento del proceso de funcionalización al crear la membrana de polipirrol.
- Aumentar la sensibilidad aproximadamente un 40%.
- Aumentar la precisión un 33%.

En definitiva, este sensor ofrece unas prestaciones adecuadas para su finalidad, que es la de realizar medidas de pH *in situ* en muestras de fluidos biológicos con la ayuda de un dispositivo POCT.

Agradecimientos

Por último, agradecer a la Universidad de Navarra por financiar la tesis doctoral de Iñigo Arranz.

Referencias

- [1] Müller-Esterl W. Bioquímica. Fundamentos para Medicina y Ciencias de la Vida. 2ª Edición. Reverté, 2008 (ISBN: 9788429173932).
- [2] Maraculla J.M., Goñi F.M. Bioquímica humana. Curso básico. 2ª Edición. Reverté, 1994 (ISBN: 8429155538).
- [3] Lakard B, Herlem G, Lakard S, Guyetant R, Fahys B. Potentiometric pH sensors based on electrodeposited polymers. *Polymer*, vol 46, 2005, pp 12233-12239 (ISSN: 0032-3861).
- [4] Wiwanitkit V. Point of care testing. iMedPub, 2011 (ISBN: 9781447785378).
- [5] Lakard B, Segut O, Lakard S, Herlem G, Gharbi T. Potentiometric miniaturized pH sensors based on polypyrrole films. *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol 122, 2007, pp 101-108, (ISSN: 0925-4005).
- [6] Página web de Sigma-Aldrich®. www.sigmaaldrich.com (Consultada: Septiembre 2016).
- [7] Crespy D, Landfester K. Miniemulsion polymerization as a versatile tool for the synthesis of functionalized polymers. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, vol 6, 2010, pp 1132-1148 (ISSN: 1860-5397).

Needle based sensors for the continuous Ischemia-Hypoxia monitoring

Samuel Dulay¹, I. Bogachan Tahirbegi^{1,3}, Monica Mir^{1,2}, Josep Samitier^{1,2,3}

¹ Nanobioengineering Laboratory, Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Barcelona, Spain.

² Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Spain.

³ Department of Electronics, Universidad de Barcelona (UB), Barcelona, Spain.

sdulay@ibecbarcelona.eu, ibogachan@ibecbarcelona.eu, mmir@ibecbarcelona.eu, jsamitier@ibecbarcelona.eu

Abstract

The development of miniaturized, implantable chemical sensors that can be employed for real-time monitoring of clinically important species, such as pH, O₂, and CO₂, Na⁺, K⁺ and Ca²⁺; glucose; lactate among other biochemical molecules remain as one of the great challenges in analytical and biomedical science. Ischemia-Hypoxia (IH) is a condition of reduced oxygen and nutrient supply to the tissue. This lack of perfusion could damage the tissue and if this tissue conditions are prolonged it could lead to tissue necrosis. Therefore, IH monitoring is very valuable during surgical procedures. When the tissue is under IH conditions, there is a decrease in the oxygen and glucose available to the tissue as well as a decrease in the removal of CO₂ due to inadequate blood flow. In this conditions, there is a ATP cell energy reduction and as a consequence the ions are not pumped properly and intracellular and extracellular concentrations of certain ions such as sodium (Na⁺), potassium (K⁺) and chloride (Cl⁻) shift, leading to abnormal ion concentration within the cells.

The array sensor that our group is developing will be harmless, inexpensive, portable, and short response time using needle based electrodes. The prototype array with a total 10 mm diameter when housed was designed for being introduced by gastroendoscopy inside the stomach.

1. Introduction.

Electrochemical sensors based on microelectronic devices have increased its important role in the last decade [1]. This field of interest largely focused on all solid-state electrochemical ion selective electrode (ISE) sensors where all the ISE compounds are integrated into a polymeric matrix and directly attached with the metal electrode. This brought the all-solid-state ISEs advantageous, such as the solid nature, miniaturisability, and the possibility of multi-sensing and mass fabrication when compared to conventional ISE [2]. Due to its advantageous properties, all-solid-state ISE has been exploited for gas sensing, electrolytes and metabolites both in vivo and in vitro for different kinds of applications. Medical diagnosis is one of the field that exploits the resources of the ISE, since the changes in these parameters are directly related with disease occurrence such as cancer [3], diabetics [4], neurological disorders [5], ischemia [6], and among others.

IH is a shortage of the blood supply to an organ. Real time monitoring of ischemia is very important, since a

prolonged IH condition causes severe tissue damage and failure of organs. Under these conditions, oxygen and glucose levels decrease and ion pumps of these ischemic cells and cannot work properly, creating a difference between intracellular and extracellular ions concentrations, such as hydrogen (pH), sodium, potassium, and chloride [6]. However, clinical results have proven that detection of ischemic-hypoxic organs by measuring the changes in blood pH was not sufficient [7]. In situ detection methods on the organ tissue are necessary for early detection of IH. Stomach is one of the foremost organs for ischemia detection, because the diagnosis is delayed and misled by losing time with the same symptoms of different diseases, making it harder to diagnose [8]. However, the low pH in the gastric juice of the stomach makes it difficult to fabricate stable and functional all-solid-state pH ISE sensors for use under these conditions.

This work presents the first developed prototype for an all-solid-state potentiometric, miniaturized and mass producible pH sensor integrated in an array for detecting hypoxia-ischemia at acidic pH (0.7–2.5) in tissue. In this platform, the problem of anion interference on ISE sensors has been solved by using an all solid-state RE, which is affected by anions, migrated to the electrode surface, in the same tendency as that of the ISE, cancelling the anion interference in the differential potentiometric measurement. Also, the sub-nernstian behaviour of the pH sensor was fixed by increasing the concentration of lipophilic anions in ISE membrane. Moreover, the adhesions of ISE membrane on different solid surfaces were studied and improved, creating a stable and robust candidate for implantable sensors. On-going further miniaturization of the developed sensors exploration.



Figure 1. Picture of the developed sensor array inserted in a gastroendoscope. The inset picture shows the size of the array.

2. Experimental

2.1. Functionalization of electrodes on the array

The electrochemical sensor array was composed of 12 electrode pins of beryllium copper alloys. Prior to the modification, they were washed with double deionized (MilliQ) water and dried under nitrogen atmosphere. The sides of the electrodes pins were insulated with a commercial biocompatible resin mixed with a hardener complex. Electrodes were completely covered with this mixture and cured at 80 °C for 3 h. This insulation reduces the background noise signal and brings high biocompatibility and chemicals resistance to the electrodes. 600 mm of beryllium copper diameter electrode area was delimited after polishing the electrodes tips. Afterwards, they were cleaned by sonication inside pure ethanol for 2 min and remaining contaminants were removed under nitrogen gas. Beryllium copper surface was first covered by carbon ink by soaking the tip of the electrodes in a homogeneous thin ink layer and left to dry at 130 °C for 6 min. Once carbon surface was dried, a layer of Ag/AgCl ink was deposited in the same manner. As the last step, the Ag/AgCl layer used as reference electrode (RE) was covered by Nafion to increase the stability of the signal and to prevent a reaction between Ag/AgCl surface and acidic solution. After the coverage with Nafion membrane, the electrodes were left for 48 h under vacuum and then left to dry under 100 °C for 1 h (Kwon et al., 2007). The electrode used as WE was covered with ISE membrane and left to dry overnight. ISE membrane was prepared with a mixture of 1.0 wt% hydrogen ionophore IV, 1.33 wt% KTCIPB, 68.0 wt% 2-nitrophenyl octyl ether, and 29.67 wt% PVC of high molecular weight. 300 mg in total of these chemicals was dissolved in 3mL of freshly distilled THF (Oesch et al., 1986).

2.2. Instruments and measurements

Electrochemical measurements were performed with a portable PalmSens electrochemical interface. Potential difference between electrodes was recorded every 0.1 s for 6500 s. pH sensing was performed in a solution of

Tris(hydroxymethyl)aminomethane adjusted to desired pH by adding controlled concentrations of HCl.

3. Results and discussion.

3.1. ISE membrane adhesion on the electrode surface

An appropriate adhesion between the electrode surface and PVC based ISE membrane is of great importance for achieving highly reproducible sensors. The adhesions of these kinds of membranes were tested on different solid supports (gold, Ag/AgCl and carbon) in order to choose the suitable surface for a stable attachment of ISE membrane under strong acidic conditions, as found in the stomach. The same ISE membrane was attached on the different surfaces and potentiometry was used to measure the potential difference created by the specific attachment of proton ions on the sensor surface. Potentiometric curves show that gold (hydrophilic) and carbon (hydrophobic) surfaces with PVC coverage have a good response, but the adhesion between the electrode surface and the ISE membrane is totally lost at pH below 2 (Fig. 2). Hydrophobicity of PVC membrane is highly dependent on pH [9]. For this reason, the severe hydrophobicity change at low pH causes the detachment of the membrane from gold and carbon surfaces. On the other hand, adhesion failure is not observed for Ag/AgCl surface (Fig. 2C). This surface was fabricated with a conductive ink containing micro-particles bound with branched acrylic polymers. Its grafted copolymer has a linear backbone with hydrophilic carboxylic acid-pendant groups and side chains of hydrophobic monomers [10]. Those hydrophilic and hydrophobic groups into the Ag/AgCl surface provide a strong adhesion, almost unaffected by the low pH.

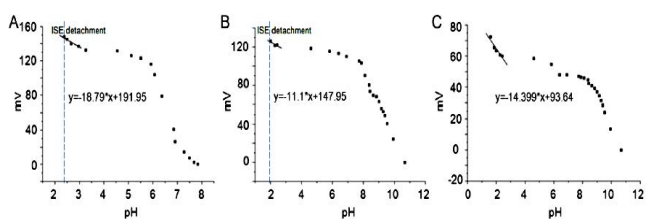


Figure 2. Potentiometry response curves of carbon (A), gold (B) and Ag/AgCl (C) layer with ISE membrane vs. external RE for different pH values.

3.2. Characterization of all-solid-state pH sensor

The results obtained above have implicated a high adhesion condition between between Ag/AgCl and ISE sensor that made it perfect candidate as an ISE pH sensor substrate at low pH. In order to test the performance of this sensor, potentiometric measurements were performed at low pH (0.7–2.5) as shown in figure 3 varying concentrations of KTCIPB. The potential recorded on this control shows the functionality for pH sensing of the ISE membrane. However, anion interference because of ionophore protonation starts to dominate at pH lower than 1.5. This causes a decrease in the potential, which disguises the protons sensing. Two clear tendencies, in which protons and anions compete, are observed; until pH

1.5, protons are dominant and below this value, anions start to be sensed. Two different strategies have been proposed for reducing the anion interference at low pH. First is based on the amount of KTCIPB used in the mixture of ISE membrane. KTCIPB is a lipophilic anion that charges negatively the ISE membrane, preventing the entrance of external anions [11].

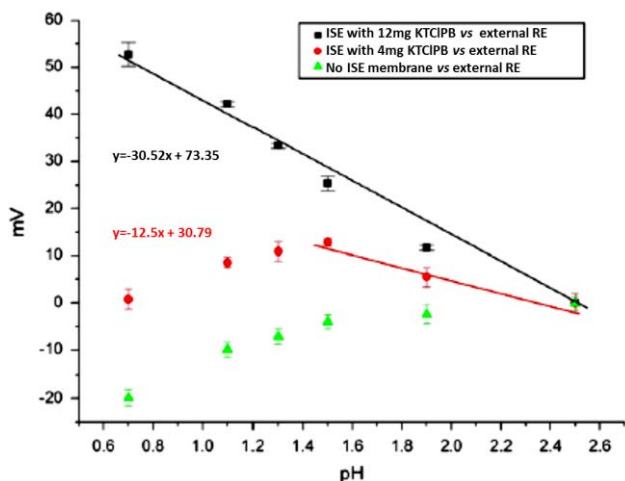


Figure 3. Potentiometry response curves for all-solid-state ISE under low pH for different KTCIPB concentrations and the absence of ISE membrane vs. external Ag/AgCl commercial RE (n=3).

The increase of KTCIPB from 4 to 12 mg blocks the anion access to the ISE sensor showing a fully functional pH sensor below pH 1.5 (Fig. 3). However, higher concentrations of KTCIPB (>12mg) in the ISE membrane have shown lost in mechanical stability, being degraded under these conditions. On the other hand, the stability of the integrated RE was measured inside a solution of 20 mM KCl and pH of 1.9 for 1 h, showing a decay of 7 mV as already reported [12], while the same RE protected with a Nafion layer gave a stable signal under the same conditions. Also, the stability of the Ag/AgCl RE signal with and without the protecting Nafion layer was tested at different pH. Fig. 4 shows the decay voltage signal observed for the platform with unprotected RE at pH below 1, due to the leakage of chloride ions from the Ag/AgCl ink. Meanwhile the Nafion protected RE shows a stable and repeatable tendency under all the pH ranges of interest.

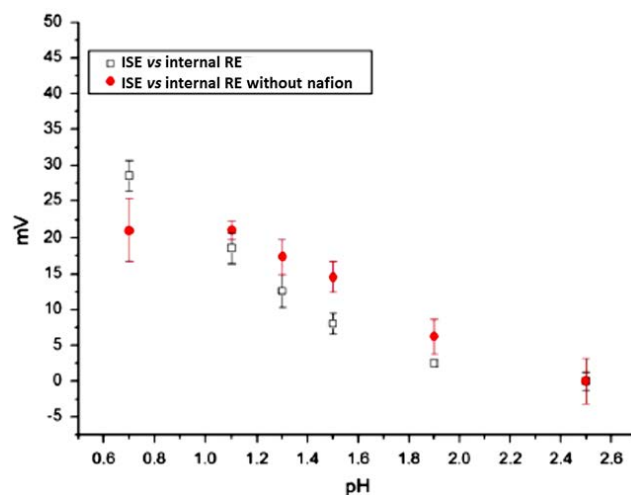


Figure 4. Potential response curves for all-solid-state ISE membrane with 4 mg of KTCIPB vs. internal RE with and without Nafion (n=2).

The same Ag/AgCl paste substrate was used for the attachment of the ISE membrane and both electrodes were integrated in an array. In Fig. 5, it can be appreciated the advantages of this platform, where the anion interferences at low pH observed in the common ISE (Fig. 3) were completely eliminated. In this case, the control without the ISE membrane has a flat baseline and was not affected by the ions absorption. Also, in the case of the ISE sensor no decay of the signal is observed at pH below 1.5. An improvement of the protons signal and an increase of the slope are observed for both ISEs fabricated with different KTCIPB concentrations. The ISE fabricated with 12 mg of KTCIPB shows a nernstian behaviour slope close to that usually observed under physiological conditions, but not reported under this highly acidic environment.

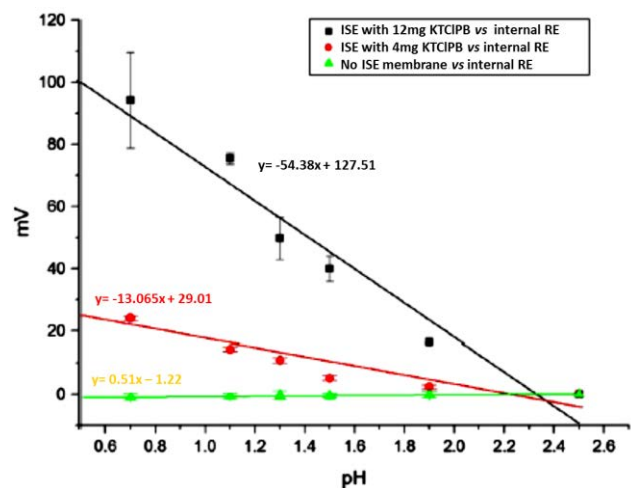


Figure 5. Potentiometry response curves for all-solid-state ISE under low pH for different KTCIPB concentrations and the absence of ISE membrane vs. internal RE (n=3).

The selectivity of the developed pH ISE sensor was tested with other cations similar to the target of interest Na^+ and K^+ , which are also the cations with higher concentration in the stomach [13]. Selectivity coefficients ($K_{A,B}$) were

calculated according to the mixed solution method [14]. Table 1 summarizes the $K_{A,B}$ values for the ISE fabricated with 4 and 12 mg of KTCIPB. The table shows that cation interference of all-solid state ISE containing 12 mg of KTCIPB is approximately eight times higher than the ISE containing 4 mg. The reason of the higher cation interference in the ISE with increased concentration of KTCIPB is due to KTCIPB which is a lipophilic anion that charges negatively the ISE membrane as reported in the literature [11].

Table 1
A=hydrogen ion, B=interfering ions.

Selectivity coefficients	Na ⁺	K ⁺
$K_{A,B}^{4\text{ mg}}$	10.4×10^{-2}	10.3×10^{-2}
$K_{A,B}^{12\text{ mg}}$	77×10^{-2}	78×10^{-2}

4. Conclusion

A novel all-solid-state potentiometric, miniaturized and mass producible pH ISE sensor for detecting IH at low pH was successfully fabricated on an array designed for IH inside the stomach by means of an endoscopic device based on macro electrodes using Ag/AgCl paste. The unique adhesion properties of Ag/AgCl paste layer result in a strong and stable attachment between Ag/AgCl and ISE membrane at low pH. There are a lot of physical and chemical approaches to increase the adhesion between the ISE membrane and the electrode surface. However, our fabrication method requires fewer steps and much straightforward for fabrication and reduces the cost of sensor preparation. The anion interference problem at low pH was solved by array integration of all-solid-state ISE and internal RE fabricated on the same substrate. In this way, the ion interference that affected RE and ISE in the same tendency was cancelled by the differential potentiometric measurement. Also, the sub nernstian behavior of all-solid-state pH sensor was fixed by the enhancement of KTCIPB concentration in ISE membrane.

Acknowledgement

CIBER-BBN is an initiative funded by the VI National R&D&i Plan 2008-2011, *Iniciativa Ingenio 2010*, *Consolider Program*, *CIBER Actions* and financed by the Instituto de Salud Carlos III with assistance from the *European Regional Development Fund*. The Nanobioengineering group has support from the Commission for Universities and Research of the Department of Innovation, Universities, and Enterprise of the Generalitat de Catalunya (2014 SGR 1442).

References

- [1] Grieshaber, D., MacKenzie, R., Voros, J., Reimhult, E., *Sensors*, 2008. **8**: p. 1400-1458.
- [2] Kwon, N., Won, M., Park, D., Shim, Y., *Electroanalysis*, 2005. **17**: p. 641-647.
- [3] Keller, A., Leidinger, P., Bauer, A., El Sharawy, A., Haas, J., Backes, C., Wendschlag, A., et al., *Nature Methods*, 2011. **8**: p. 841-845.
- [4] Lin, Y., Sun, Z., *Journal of Endocrinology*, 2010. **204**: p. 1-11.
- [5] Mattson, M.P., *Nature*, 2004. **430**: p. 631-639.
- [6] Ammann, D., Anker, P., Metzger, E., Oesch, U., Simon, W., 1985. In: Kessler, M., and D.K. Harrison, Hoper, J. (Eds.), Springer-Verlag, Berlin, 1985.
- [7] Gonullu, D., Yankol, Y., Isiman, F., Igdem, A.A., Yucal, O., Koksoy, F.N., *Turkish Journal of Trauma and Emergency Surgery* 2007. **13**: p. 261-267.
- [8] Quentin, V., Dib, N., Thouveny, F., L'Hoste, P., Croue, A., Boyer, J., *Endoscopy*, 2006. **38**: p. 529-532.
- [9] Pascoe, R.D., and Connell, B.O., *Waste Management* 2003. **23**: p. 845-850.
- [10] Chan, M., *Water-based silver-silverchloride compositions*. US Patent: US, 1996. **5**(565): p. 143A.
- [11] Cardwell, T.J., Cattrall, R.W., Deady, L.W., Murphy, K.A., *Australian Journal of Chemistry* 1992. **45**: p. 435-438.
- [12] Matsumoto, T., Ohashi, A., Ito, N., *Analytica Chimica Acta* 2002. **462**: p. 253-259.
- [13] Watson, S.J., Smallwood, R.H., Brown, B.H., Cherian, P., and Bardhan, K.D., *Physiological Measurement* 1996. **17**: p. 21-27.
- [14] Ekmekci, G., and Somer, G., *Analytical Sciences*, 2000. **16**: p. 307-311.

Posiciones alternativas del sensor de aceleración para la medida fiable de la calidad de las compresiones torácicas durante la resucitación cardiopulmonar

D. González Otero¹, J. Ruiz Ojeda¹, S. Ruiz de Gauna Gutiérrez¹

¹ Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Bilbao, España,
{dignamaria.gonzalez,jesusmaria.ruiz,sofia.ruizdegauna}@ehu.eus

Resumen

El uso de sistemas de retroalimentación durante la resucitación cardiopulmonar mejora la calidad de las compresiones torácicas. Estos dispositivos se colocan generalmente entre el pecho del paciente y las manos del rescatador. La presión prolongada del dispositivo sobre el paciente puede provocarle daños y causar molestias al rescatador. En este estudio evaluamos la precisión de un método de estimación de la profundidad y la frecuencia de las compresiones basado en la señal de aceleración cuando el acelerómetro es colocado en la muñeca del rescatador para minimizar las molestias. Colocamos un sensor de desplazamiento en un maniquí de resucitación para obtener la referencia de profundidad y frecuencia. Se registraron 60 episodios de 1 minuto donde voluntarios realizaron compresiones torácicas sobre el maniquí con el sensor colocado en la muñeca o sobre el pecho del paciente (posición convencional). La profundidad y la frecuencia se estimaron a partir del análisis espectral de la señal de aceleración. La mediana del error absoluto en el cálculo de la profundidad fue 5.6 mm y 1.8 mm para la muñeca y el pecho del paciente, respectivamente. La mediana del error absoluto en el cálculo de la frecuencia fue 0.9 compresiones por minuto en ambas posiciones. Cuando el sensor se situó en la muñeca del paciente, el error en la estimación de la profundidad aumentó significativamente. Conviene estudiar posicionamientos alternativos para evitar daños al paciente y molestias al rescatador.

1. Introducción

La calidad de la resucitación cardiopulmonar (RCP) es un aspecto crítico para maximizar la probabilidad de supervivencia ante una parada cardiorrespiratoria. Las compresiones torácicas administradas sobre el pecho del paciente y las ventilaciones generan un mínimo flujo de sangre oxigenada que contribuye a prevenir la hipoxia y favorece la probabilidad de éxito de la desfibrilación [1]. En los últimos años se ha impulsado la monitorización en tiempo real de los parámetros de calidad de la RCP mediante sistemas de retroalimentación, capaces de guiar al rescatador en la realización de compresiones a una frecuencia y profundidad recomendadas por las guías de resucitación [2,3].

Los actuales dispositivos comerciales están diseñados para su posicionamiento entre el pecho del paciente y las manos del rescatador. Sin embargo, una presión continuada del sensor contra el pecho puede provocar daños en la piel y en los tejidos blandos del paciente [4].

Además, algunos rescatadores han reportado molestias en los talones de las manos y en las muñecas que se han asociado al uso de sistemas de retroalimentación. En algunos casos se han reportado incluso lesiones por la utilización de estos sistemas [5,6].

El objetivo de este estudio fue evaluar el comportamiento de un método de estimación de la profundidad y la frecuencia de las compresiones torácicas basado en la señal de aceleración colocando el sensor en la muñeca del rescatador. Esto permitiría medir el movimiento del pecho durante las compresiones, evitando molestias y lesiones. Los resultados fueron comparados con los obtenidos con el sensor situado en su posición convencional.

2. Materiales y métodos

2.1. Equipo experimental

Se dispuso de un torso de un maniquí de resucitación Resusci Anne CPR (Laerdal Medical, Noruega), al que colocamos un sensor resistivo SP1-4 (Celesco, EE.UU.) situado dentro del maniquí, para medir el desplazamiento del pecho (señal de referencia), tal como se muestra en la Figura 1. Para el registro de las aceleraciones utilizamos un acelerómetro tri-axial ADXL330 (Analog Devices, EE.UU.). Las señales de interés fueron adquiridas usando una tarjeta USB NI 6211 (National Instruments, EE.UU.) conectada a un ordenador portátil. La Figura 1 muestra este montaje experimental. Para la realización de las medidas el acelerómetro se integró en una tarjeta de acondicionamiento y se dispuso para su colocación en la muñeca del rescatador fijado mediante una banda elástica (Figura 2) o encapsulado en una caja metálica para su colocación en la posición convencional, sobre el pecho del maniquí (Figura 1).

2.2. Recopilación de la base de registros

El protocolo para la recopilación de la base de registros fue aprobado por el Comité de Ética para la Investigación con Seres Humanos de la Universidad del País Vasco (UPV/EHU). Diez voluntarios participaron en los experimentos. Antes de las sesiones de grabación recibieron un entrenamiento básico en RCP sobre el mismo maniquí de resucitación. Para ello se utilizó un programa de entrenamiento propio realizado en Matlab® que registró la señal de desplazamiento del pecho del sensor resistivo del maniquí en tiempo real y calculó la

frecuencia y profundidad de las compresiones. Esta información fue mostrada a los rescatadores para que se ajustaran a los parámetros de frecuencia y profundidad requeridos.

Para realizar las grabaciones, los rescatadores administraron compresiones torácicas de forma ininterrumpida durante episodios de 1 minuto, con diferentes frecuencias objetivo (80, 100 y 120 compresiones por minuto) y con una profundidad objetivo de 50 mm, para tener un rango representativo de los valores habitualmente reportados. Los voluntarios no recibieron instrucciones específicas sobre cómo aplicar la RCP con el sensor colocado en la muñeca.

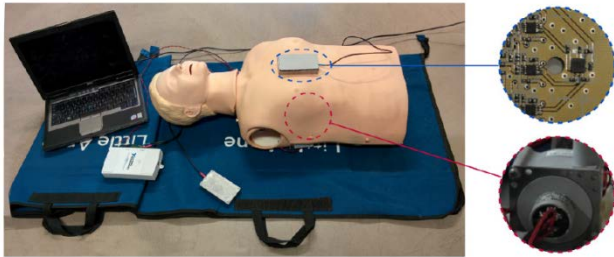


Figura 1. Equipo experimental. Vista aumentada del acelerómetro encapsulado (derecha, arriba) y del sensor de desplazamiento de referencia (derecha, abajo)



Figura 2. Acelerómetro situado en la muñeca del rescatador

Las señales fueron registradas mediante un programa propio realizado en Matlab®. Se grabaron 60 registros de 1 minuto de duración, 30 por cada posición, conteniendo la señal de referencia del sensor resistivo y las aceleraciones de los tres ejes del acelerómetro. Las señales fueron adquiridas con una frecuencia de muestreo de 1000 Hz y una resolución de 16 bits/muestra.

2.3. Estimación de la profundidad mediante el análisis espectral de la aceleración

Para calcular la profundidad de las compresiones torácicas a partir de la señal de aceleración, utilizamos la hipótesis de que, durante intervalos de corta duración, tanto la señal de aceleración como la de profundidad son cuasi-periódicas. Así, modelamos cada señal en un intervalo de 2 segundos mediante los tres primeros armónicos de su representación en serie de Fourier. Para ello, en primer lugar, se calculó la FFT de la aceleración enventanada con ventana de Hamming de 2 segundos y se estimaron el módulo y la fase de los tres primeros armónicos de la señal de aceleración.

Se puede probar de forma analítica que las amplitudes y fases de las componentes espectrales de la señal de profundidad de compresión pueden calcularse a partir de las componentes de la aceleración, teniendo en cuenta que la aceleración es la segunda derivada de la profundidad. A partir de estos valores, pudo reconstruirse una versión periódica de la señal de desplazamiento del pecho durante la ventana de análisis. El valor pico-pico de esta señal periódica es la profundidad media de compresión en dicho intervalo. La frecuencia media de compresión para cada ventana de análisis se calcula como la frecuencia fundamental (primer armónico) de la señal de aceleración. Los detalles del algoritmo para la obtención de la profundidad y frecuencia de compresión en intervalos cortos de tiempo fueron publicados por González-Otero et al. [7].

2.4. Análisis de los datos

Los registros se dividieron en ventanas de 2 segundos sin solape. El algoritmo de análisis espectral se aplicó a cada uno de los intervalos. Los valores de referencia para la profundidad y la frecuencia de las compresiones fueron calculados aplicando un detector de picos a la señal de desplazamiento adquirida por el sensor incorporado en el maniquí. La profundidad media de referencia en cada intervalo se calculó como la media de las profundidades de las compresiones detectadas en dicho intervalo. La frecuencia media se calculó como la inversa de la distancia media entre las compresiones de dicho intervalo, expresada en compresiones por minuto (cpm). El error en la estimación en cada intervalo se calculó como la diferencia entre el valor estimado y el valor de referencia.

Los valores del error absoluto se reportan mediante la mediana y los percentiles 25 (Q_1), 75 (Q_3) y 95 (P_{95}). La distribución del error con signo para la profundidad se presenta mediante *boxplots* y para la frecuencia mediante *digramas Bland-Altman modificados*. Como los resultados no pasaron el test de normalidad *Lilliefors*, se aplicó el test *Wilcoxon Rank sum* para realizar comparaciones entre las dos posiciones y *Kruskal Wallis* para comparar los resultados entre rescatadores. Se consideraron significativos valores $p < 0.05$.

3. Resultados

Las distribuciones del error obtenido en la estimación de la profundidad de la compresión con el sensor colocado en el pecho del maniquí y en la muñeca del rescatador se muestran en la Figura 3. El error en la muñeca presentó un mayor sesgo positivo y varianza que los reportados en la posición convencional.

Los resultados del error absoluto para la profundidad en ambas posiciones se muestran en la Tabla 1. Con el sensor situado en el pecho del maniquí, la mediana del error en valor absoluto fue de 1.8 mm. En el 75% de los casos el error fue inferior a 2.8 mm y en el 95% de los casos inferior a 4.9 mm. Con el sensor fijado en la muñeca del rescatador, la mediana del error en valor absoluto fue de 5.6 mm. En el 75% de los casos el error fue inferior a 12.5 mm y en el 95% de los casos inferior a 28.7 mm. El análisis comparativo del error según la

posición del sensor mostró diferencias estadísticamente significativas entre ambas posiciones ($p < 0.001$).

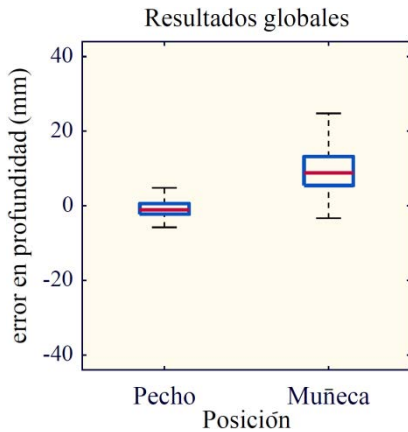


Figura 3. Distribución del error en la estimación de la profundidad en las dos posiciones del sensor analizadas

Posición	Error absoluto					
	Profundidad (mm)			Frecuencia (cpm)		
	Med.	Q ₁ , Q ₃	P ₉₅	Med.	Q ₁ , Q ₃	P ₉₅
Pecho	1.8	0.9,2.8	4.9	0.9	0.4,1.5	2.5
Muñeca	5.6	2.2,12.5	28.7	0.9	0.4,1.5	2.6

Tabla 1. Error absoluto en profundidad y frecuencia para las dos posiciones analizadas.

En la Figura 4 se muestra la distribución del error en profundidad en función de cada rescatador para cada una de las posiciones analizadas. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre rescatadores ($p < 0.001$) para las dos posiciones. El sesgo y la varianza observados entre rescatadores con el sensor colocado en la muñeca fue mayor (Figura 4, panel inferior).

Por su parte, la precisión del método en el cálculo de la frecuencia de las compresiones se muestra en la Tabla 1. La mediana del error en valor absoluto fue 0.9 cpm. En el 75% de los casos el error fue inferior a 1.5 cpm y en el 95% de los casos inferior a 2.5 mm (pecho) y 2.6 mm (muñeca). Además, la Figura 5 muestra un diagrama Bland-Altman modificado donde se compara el error con el valor de referencia de frecuencia (sensor en muñeca). La media fue 0.0167 y el intervalo de confianza al 95% (-2.72, 2.69). No se encontraron diferencias significativas entre las posiciones del sensor ($p = 0.250$).

4. Discusión

En este estudio se ha evaluado cómo la colocación del sensor de aceleración en posiciones alternativas a la convencional (sobre el pecho del paciente) afecta a la exactitud del método de cálculo de la profundidad y de la frecuencia de las compresiones torácicas durante la RCP.

La precisión en el cálculo de la frecuencia de la compresión fue de 1 compresión por minuto y la posición del sensor no influyó en el cálculo de este parámetro. La

componente fundamental de la aceleración es un buen estimador de la frecuencia de la compresión y la inclinación del sensor no influyó en la precisión del método.

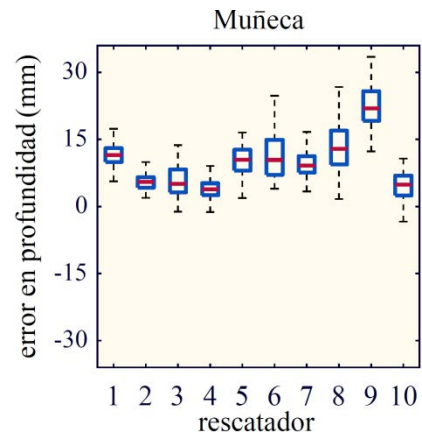
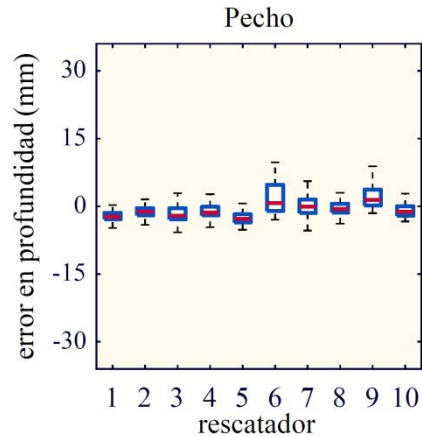


Figura 4. Distribución del error en profundidad entre los diferentes rescatadores para cada posición

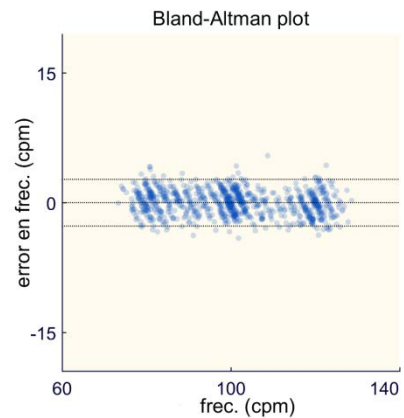


Figura 5. Diagrama Bland-Altman modificado para la estimación de la frecuencia de las compresiones (muñeca)

Con respecto a la estimación de la profundidad de compresión, el método funcionó de forma muy satisfactoria con el sensor colocado en la posición convencional. Sin embargo, los errores fueron muy superiores cuando el sensor se posicionó en la muñeca del rescatador, es decir, cuando la distancia del sensor con respecto al pecho es mayor. Se observó además una tendencia a la sobreestimación de la profundidad tanto de

forma global como en los resultados disgregados por rescatador.

El algoritmo compone las señales de aceleración de los tres ejes X, Y, Z y calcula la profundidad a partir de la aceleración compuesta. Esta aceleración sería la generada por el movimiento de descenso y ascenso del pecho cuando dicha aceleración es perpendicular al pecho. Sin embargo, esta asunción podría no cumplirse cuando el acelerómetro no está fijo sobre el pecho del paciente. El sensor colocado en la muñeca está sometido a movimientos oscilatorios que no se traducen en un desplazamiento del pecho hacia abajo (profundidad efectiva). Además, se observó que algunos rescatadores tendían a separar las manos del pecho durante la fase de descompresión del pecho, lo que justifica el incremento del error con respecto a los obtenidos en la posición convencional.

Con el desarrollo de los relojes inteligentes se podría proponer la implementación de aplicaciones de retroalimentación de la calidad de la RCP basadas en acelerómetros. Estas aplicaciones podrían ser útiles en el soporte vital básico como ayuda para los rescatadores legos. Sin embargo, nuestros resultados cuestionan la fiabilidad de estas medidas. En un estudio preliminar realizado recientemente [8] se propuso como posición alternativa y fiable el dorso de la mano colocada en la parte superior durante la RCP. Los relojes e incluso los teléfonos móviles podrían adaptarse para ser colocados en dicha posición.

Los voluntarios que realizaron las compresiones son personal no médico con entrenamiento básico en RCP. La técnica de realización de compresiones podría ser diferente en personal entrenado y habituado a la práctica de la RCP, por lo que los resultados podrían variar en este caso.

5. Conclusiones

La calidad de las compresiones torácicas durante la RCP es fundamental para aumentar la supervivencia ante una parada cardiorrespiratoria. Los sistemas de retroalimentación actuales están diseñados para ser colocados entre las manos del rescatador y el pecho del paciente. Para evitar lesiones y/o molestias durante la intervención, se evaluó la precisión en el cálculo de la profundidad y frecuencia de las compresiones a partir de un sensor de aceleración colocado en la muñeca del rescatador. La precisión fue muy inferior a la obtenida en la posición convencional. Conviene por lo tanto estudiar

posicionamientos alternativos del sensor para evitar daños al paciente y molestias al rescatador.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por el proyecto institucional TEC2012-31144, las subvenciones del Gobierno Vasco (BFI-2011-166) y de la UPV/EHU (UFI11/16) así como por la beca de contratación de doctores recientes hasta su integración en programas de formación postdoctoral. Los autores agradecen la participación de los voluntarios.

Referencias

- [1] Perkins GD, Handley AJ, Koster RW, Castrén M, Smyth MA, Olasveengen T, Monsieurs KG, Raffay V, Gräsner JT, Wenzel V, Ristagno G. European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2015: Section 2. Adult basic life support and automated external defibrillation. *Resuscitation*. 2015;95:81-99.
- [2] Gruber J, Stumpf D, Zapletal B, Neuhold S, and Fischer H. Real-time feedback systems in CPR. *Trends in Anaesthesia and Critical Care* 2012;2(6); 287–294.
- [3] Yeung J, Meeks R, Edelson D, Gao F, Soar J, and Perkins GD. The use of CPR feedback/prompt devices during training and CPR performance: a systematic review. *Resuscitation* 2009;80(7); 743–751.
- [4] Cho G. Skin and soft tissue damage caused by use of feedback-sensor during chest compressions. *Resuscitation* 2009;5(80);600.
- [5] Perkins GD, Augré C, Rogers H, Allan M, and Thickett DR. CPREzy™: an evaluation during simulated cardiac arrest on a hospital bed. *Resuscitation* 2005;64(1); 103–108.
- [6] Zapletal B, Greif R, Stumpf D, et al. Comparing three CPR feedback devices and standard BLS in a single rescuer scenario: a randomized simulation study. *Resuscitation* 2014;85(4); 560–566.
- [7] González-Otero DM, Ruiz J, Ruiz de Gauna S, Irusta U, Ayala U, Alonso E. A new method for feedback on the quality of chest compressions during cardiopulmonary resuscitation. *BioMed Research International*. 2014;Article ID 865967.
- [8] Ruiz de Gauna S, González-Otero DM, Ruiz J, Chicote B, Ruiz J, and Russell JK. Estimation of the chest compression depth using an accelerometer positioned on the rescuer's back of the hand or forearm. *Resuscitation* 2015;96(1):16.

Estrés percibido por los pacientes de centros de salud. Un estudio mediante GSR y HRV como medidas complementarias al cuestionario

J.L. Higuera Trujillo¹, C. Torrecilla Moreno¹, C. de Juan Ripoll¹,
J.Guixeres Provinciale¹, M.L. Alcañíz Raya¹

¹ I3B Instituto de Investigación en Innovación y Bioingeniería, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, {jlhiguera@lableni.com; ctorrecilla@lableni.com; cdejuan@lableni.com; jguixeres@lableni.com; malcaniz@lableni.com}

Resumen

El ambiente de un centro de salud puede generar estrés en los pacientes. Así mismo, este puede generar estados psicofisiológicos que desencadenen conductas de aceptación o rechazo hacia determinados centros médicos, reflejándose este rechazo en insatisfacción.

El grado de excitación se ha venido midiendo como respuesta a cuestionarios. Estas respuestas suelen tener una evaluación cognitiva que representa un sesgo. Sin embargo, los avances en tecnologías neurofisiológicas han demostrado que las reacciones del Sistema Nervioso Autónomo medido a través de los registros de la respuesta galvánica de la piel (GSR) y la variabilidad cardíaca (HRV), son indicadores adecuados para medir aspectos de la emoción como el arousal (calma/excitación) y la valencia (agradable/desagradable).

Bajo esta premisa se desarrolla el presente trabajo. En este se analizan los datos de GSR y HRV recogidos de pacientes voluntarios en dos centros de salud de dos ciudades distintas con el objetivo de profundizar en la sensación de estrés que experimentan. Los resultados suponen la primera fase de un estudio posterior cuyo objetivo es identificar los factores del ambiente del centro que más generan la sensación de estrés y en qué medida afectan al comportamiento del paciente. Obteniendo de esta manera un nuevo enfoque que posibilita la creación de experiencias sanitarias más satisfactorias.

1. Introducción

Cuando un paciente se enfrenta a la experiencia en un entorno médico, en él se generan reacciones emocionales. Hasta la fecha, la manera más frecuente de estudiar estas reacciones ha sido mediante respuesta psicométrica. Sin embargo, estas respuestas suelen presentar una evaluación cognitiva que representa un sesgo el cual se puede evitar utilizando medidas neurofisiológicas [1].

Actualmente, los avances en tecnologías neurofisiológicas han demostrado que la respuesta galvánica (GSR) es una señal fiable para la investigación de distintos procesos cognitivos-emocionales relacionada con el Sistema Simpático [2]. Su análisis permite descomponerla en: Tónica, una actividad que varía lentamente, referida al nivel basal de conductancia; y Fásica, una actividad que varía rápidamente, referida a las respuestas ante estímulos [3]. Entre los trabajos con esta señal se encuentran estudios que han identificado un aumento de la actividad Fásica [4] ante aspectos relacionados con el arousal. De esta forma, se ha utilizado para el estudio del arousal o

excitación e incluso como indicador directo de estados de estrés [5].

Otro de los fenómenos fisiológicos utilizados a la hora de medir la excitación es la variabilidad cardíaca (HRV). Esta se puede obtener del pulso volumétrico de la sangre BVP (Blood Volume Pulse), lo cual indica el intervalo de tiempo entre latidos del corazón denominado IBI (InterBeat Intervals). Su análisis en el dominio de la frecuencia permite descomponerla en las bandas de alta frecuencia o HF (0.15-0.4 Hz), relacionada con la actividad del Sistema Parasimpático; y baja frecuencia o LF (0.04-0.15 Hz) relacionada con la del Sistema Simpático [6]. Entre los trabajos con este registro encontramos su uso para observar la respuesta aspectos relacionados con el arousal [7]. En este sentido también es posible estudiar el ratio entre ambas, bajo la variable LFHF o índice simpatovagal, que refleja el balance entre el Sistema Simpático frente al Parasimpático.

De esta forma, tanto GSR como HRV son bioseñales que aportan conocimiento sobre el fenómeno de la emoción y contribuyen a su tratado y caracterización [8]. En el presente trabajo, a través del uso conjunto de ambas se pretende profundizar en el estudio del estrés sufrido por los pacientes en los centros de salud.

2. Materiales y Métodos

La recogida de datos fue de naturaleza dual. Por un lado, el registro de datos fisiológicos de GSR y HRV se hizo a través del dispositivo Empatica E4. La elección de esta se basó en estudios que han validado su registro [9], así como en estudios internos de usabilidad llevados a cabo por el equipo investigador. Por otro, se recogió la verbalización voluntaria o *think aloud* de cada uno de los pacientes. Es última pretendía servir de apoyo a la hora de orientar las conclusiones.

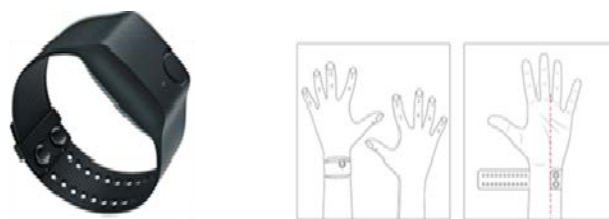


Figura 1. Dispositivo E4 y su colocación

En el dispositivo E4 como en la gran mayoría de sistemas de reconocimiento de las bioseñales, la señal se transmite en crudo. Por consiguiente, esta debe someterse a un procesamiento [10] que permita discernir las características relevantes de las señales fisiológicas [11]. A continuación sobre estas se llevan a cabo distintos estadísticos descriptivos [12]. Así, para asegurar la integridad de los resultados, todos estos datos se trataron.

2.1. Muestra de participantes

Los participantes fueron 40 personas. La mitad de la muestra corresponde a cada centro de salud. En cuanto a demografía, se balanceó según género y consulta médica a la que asistía el participante (evitándose los pacientes que acudían a consultas que resultasen especialmente estresantes, como oncología u obstetricia). La tabla 1 recoge las características de género y edad de los participantes en mayor detalle.

Género		Edad			
Hombre	18	45%	20-39	15	38%
Mujer	22	55%	40-50	19	48%
			51-60	6	14%

Tabla 1. Características de los participantes

2.2. Realización del estudio

En primer lugar se procedió a la captación de participantes dispuestos a formar parte de la muestra. Esto se realizó desde la recepción de los centros de salud, teniendo en cuenta los criterios antes comentados.

Una vez firmado el consentimiento, el sujeto era acompañado a un espacio facilitado por el centro y habilitado para el inicio de la experiencia. En este se le colocaba la pulsera en la mano contraria a la dominante, y a continuación se le exponía a un audio relajante que servía de línea base (LB). La LB refleja las medidas fisiológicas del participante en fase de relajación, pudiéndose comparar inter-sujeto el registro procedente de otros estados emocionales.

A continuación el sujeto realizaba su consulta normalmente, marcando el cambio de estancia mediante una pulsación en el dispositivo Empatica E4: de la sala de espera (SE) a la sala de consulta (SC). Todos los datos fisiológicos quedaban registrados en la memoria interna del dispositivo, para posteriormente ser descargados.

2.3 Tratamiento de datos fisiológicos

Las bioseñales GSR e IBI fueron registradas para cada participante durante toda la experiencia.

La de GSR fue pre-procesada y analizada con un toolbox de tratamiento (Ledalab® V3.4.9, www.ledalab.de) operando desde Matlab (2012a; www.mathworks.com). El pre-procesado consistió en dos fases sucesivas: (i) eliminación de los tramos de señal registrados durante amplios movimientos de la mano en que se encontraba el dispositivo dado que podría afectar a la señal, detectados a través del acelerómetro en tres ejes que incorpora el

mismo; y (ii) diagnóstico visual de artefactos y sus correcciones mediante interpolaciones de tipo “spline” con períodos pre/post de 1 segundo. El análisis consistió en la aplicación del método CDA (Continuous Decomposition Analysis) [13], para discernir las componentes tónica y fásica de la respuesta electrodérmica de la piel. La relativa calidad de la señal y la robustez del método de análisis elegido, hizo que no se considerase necesario suavizar la señal previamente a la aplicación del análisis. Finalmente, para reducir las diferencias inter-sujetos, los valores fueron estandarizados usando una adaptación de la fórmula de Venables and Christie que permite valores negativos “ $y=\log(1+|x|)\cdot\text{sign}(x)$ ” [14].

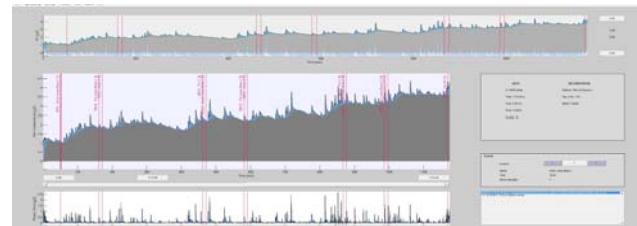


Figura 2. Ejemplo de tratamiento de GSR

La de HRV fue obtenida a través del pre-procesado y análisis del IBI registrado, llevado a cabo con un toolbox de tratamiento de la Variabilidad del Ritmo Cardíaco (HRVAS V2014-03-21) desde Matlab. El análisis consistió en la aplicación del método de Welch para el análisis en el dominio de la frecuencia [15] a los registros de cada participante. De este se obtuvieron los valores normalizados de las bandas de baja (nLF) y alta frecuencia (nHF), y el ratio entre ambas (LFHF).

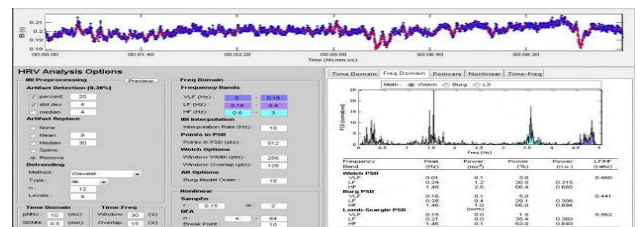


Figura 3. Ejemplo de tratamiento de HRV

Los datos del análisis de ambas bioseñales fueron exportados a Matlab para cada participante y condición (LB, SE, y CO) con el objeto de calcular sus medias y desviaciones estándar.

2.4 Análisis

Los datos analizados procedieron de dos tipos de medidas: fisiológicas de GSR y HRV, y verbalización o think aloud. En cuanto a la verbalización, los datos que se obtuvieron son las percepciones verbalizadas de los pacientes una vez la experiencia; lo cual permitió contrastar su expresión verbal con lo que reflejaban las bioseñales.

Los grupos de datos fisiológicos extraídos una vez procesadas las bioseñales son los siguientes: (i) GSR y HRV en LB; (ii) GSR y HRV en SE; y (iii) GSR y HRV en SC. De cada una de las bioseñales se obtuvieron las métricas comentados en el punto 2.3, obteniendo finalmente las siguientes combinaciones: GSR-Tónica-

LB, GSR-Fásica-LB, GSR-Tónica-SE, GSR-Fásica-SE, GSR-Tónica-SC, GSR-Fásica-SC, HRV-nLF-LB, HRV-nHF-LB, HRV-LFHF-LB, HRV-nLF-SE, HRV-nHF-SE, HRV-LFHF-SE, HRV-nLF-SC, HRV-nHF-SC, y HRV-LFHF-SC. De todas ellas se calculó el ratio entre las medias tanto para SE como para CC con respecto a LB. En este, cuando es mayor que 1 indica que existe un incremento en la métrica con respecto a la LB, lo que se relaciona con un aumento del estrés del sujeto en la sala que se está estudiando. Mientras mayor sea esta, mayor sería el aumento del estrés. Por el contrario, si el ratio presentase un valor inferior a 1, indicaría el decremento de la métrica de con respecto a LB. Con todos estos, se generó una base de datos que fue trabajada estadísticamente con Excel (V2013) y SPSS (V22.0). Además se elaboraron una serie de esquemas de apoyo mostrando ambas bioseñales en los tres momentos de la experiencia (LB, SE, y CC):

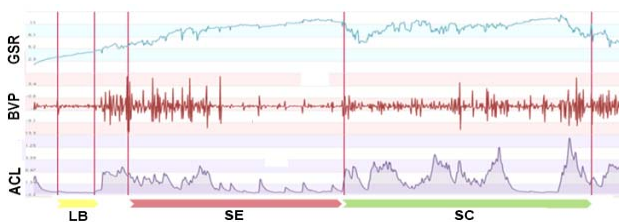


Figura 4. Ejemplo gráfico de bioseñales durante la experiencia

A propósito de estas pueden hacerse algunos comentarios. Como se puede comprobar en la Figura 4 la parte que corresponde a la LB aunque presenta una tendencia ascendente no es muy acusada ni se aprecian picos a causa de momentos en los que se ha generado estrés tal y como aparecen en las siguientes fases SE y SC.

Una vez analizado, el incremento de ratios no se dio en todos los sujetos. Sin embargo, la métrica denominada Fásica fue la que mayor robustez ofreció en resultados; relacionada, como anteriormente se comentó, con los estímulos externos que influyen al sujeto, más que de las circunstancias individuales como la Tónica.

3. Resultados

En base a las métricas GSR-Fásica se sacaron los hits por ciudad. Los hits representan en porcentaje la cantidad de sujetos que se ha estresado en cada una de las salas medidas. En la Ciudad 1 y en SE es un 88,89% de los sujetos estudiados el que se estresa frente a un 11,11% de los sujetos no estresados. En SC el porcentaje de sujetos estresados incrementa a un 94,4%, disminuyendo consiguientemente el porcentaje de los sujetos no estresados a un 5,6%. En la Ciudad 2 y en SE es un 61,54% de los sujetos el que se estresa frente a un 38,46% que no se estresa. En SC el porcentaje de sujetos estresado es de un 84,61% frente a un 15,39%. Si atendemos a estos datos única y exclusivamente, podríamos concluir que se ha generado mayor estrés en la sala de consulta (SC). Sin embargo, y para fortalecer la robustez de esta conclusión se ha procedido a analizar la señal LFHF y a compararla con los hits por GSR-Fásica en ambas ciudades.

Los resultados de esta métrica indican que mientras los hits de estresados en SE de ambas ciudades corresponden a un 46,15% y en SC a un 53,85%, de la misma manera el porcentaje de estrés en SC es más elevado en las dos ciudades a nivel agregado si además se tiene en cuenta la métrica de LFHF. Los resultados de esta métrica corroboran que los pacientes están más estresados en la sala de consulta (SC) ya que es un 63,64% de los pacientes el que está estresado frente a un 36,36% de los pacientes que no lo están.

Así mismo, se estudiaron por tramos temporales de permanencia cada una de las salas (inicio, medio, final) y se concluyó que en ambas ciudades los mayores momentos de estrés son los de inicio. No obstante, esto podría deberse a la exposición a una experiencia nueva, algo en lo cual el espacio tiene una alta influencia. Particularmente en la Ciudad 1, destacan los picos de estrés durante los últimos momentos de SE y al finalizar SC. Respectivamente, esto podría deberse a un tiempo excesivo de espera y a una reacción ante el diagnóstico. Pormenorizadamente, los datos analizados son los siguientes:

En la ciudad 1.

Sala de espera (SE). Un 44,44% de los usuarios presenta mayores niveles de estrés al inicio de la estancia, mientras que un 11,11% presenta mayor estrés en medio de la estancia, y un 27,78% presentan un mayor nivel de estrés generado al final. Existe un 16,67% cuyos datos no son concluyentes.

Sala de consulta (SC). Los datos analizados concluyen que un 27,77% de los usuarios presentan un mayor estrés generado al inicio de la estancia, mientras que un 11,11% de los usuarios presentan un mayor estrés generado en medio del tiempo de la estancia, frente a un 27,77% que igualmente presenta un nivel de estrés generado al final de la estancia. Existe un 33,35% de los usuarios estudiados cuyos datos no son concluyentes.

En la ciudad 2.

Sala de espera (SE). Un 61,54% de los usuarios presenta mayores niveles de estrés al inicio de la estancia, mientras que un 15,38% presenta mayor estrés en medio de la estancia en la sala de espera, y un 7,69% presenta mayor nivel de estrés generado al final. Existe un 15,39% cuyos datos no son concluyentes.

Sala de consulta (SC). Un 53,85% de los usuarios presenta mayores niveles de estrés al inicio de la estancia en la sala de espera, y un 15,38% presentan un mayor nivel de estrés generado al final de la estancia en la sala de espera. Existe un 30,77% cuyos datos no son concluyentes.

Hasta aquí se ha estudiado la influencia de los factores externos dependientes del entorno. Sin embargo es muy interesante conocer efectivamente la relación que se establece entre el tiempo de permanencia en las estancias estudiadas con el nivel de estrés medido. Para analizar estos datos se procedió a estudiar los ratios, ordenándolos de menor a mayor para conocer qué sujetos son los que se

han estresado más y corroborar si los tiempos de espera mayores coincidían con los niveles de estrés mayores. Sin embargo, no se encontró correlación significativa entre los niveles de estrés y el tiempo pasado en los centros estudiados. De esto se podría concluir que los sujetos que presentan una mayor diferencia de estrés no son los que más tiempo han pasado en la visita al centro médico. El factor tiempo no parece ser determinante para la generación del estrés.

En cuanto a los datos recogidos mediante verbalización o think aloud resultó interesante comprobar si existía diferencia con respecto a la fisiológica. Para corroborar esta hipótesis se procedió a registrar las respuestas verbales de cada sujeto, contrastando con el ratio de diferencia en la métrica Fásica; afirmándose que en un 61,29% de los casos estudiados el nivel de relax o de estrés verbalizado no se corresponde con el nivel de estrés medido a nivel fisiológico. Así, las percepciones indicadas por el sujeto estudiado no se corresponden siempre con los datos recogidos a nivel fisiológico, concluyéndose que existe un sesgo en la respuesta verbal.

A nivel general se pueden extraer las siguientes conclusiones: (i) se genera un mayor nivel de estrés en la sala de consulta en comparación con las sala de espera, en las dos ciudades y a nivel agregado; (ii) se genera un mayor nivel de estrés al inicio de la estancia en cada una de las salas, y en cada una de las ciudades, lo que podría deberse a la exposición a una experiencia nueva, algo en lo cual el espacio tiene una alta influencia; (iii) el tiempo de espera no es un factor determinante del estrés, existen otros factores de más peso que habría que estudiar en profundidad y (iv) el 61,29% de las respuestas verbalizadas no coincide con lo medido fisiológicamente, con lo que podemos asegurar que GSR y HRV son medidas alternativas al cuestionario en niveles de estrés.

4. Limitaciones del estudio y futuras líneas de investigación

Este estudio ha supuesto un reto debido a la dificultad que supone captar muestra, medir y cuantificar de manera científica el nivel de estrés en situaciones no controladas. Además, los registros fueron minorados debido a problemas en uso del dispositivo E4 por los participantes.

En cuanto a futuras líneas de investigación que continúen el trabajo realizado en este estudio se plantea realizar un estudio que permita reconocer cuáles son los factores ambientales que influyen en la sala de consulta a nivel de generación de estrés. Por otro lado sería interesante neuroevaluar distintos contenidos que relajaran a los pacientes antes de entrar en la sala de consulta. Igualmente, sería interesante estudiar posibles diseños de las salas de consulta que facilitarían la relajación.

Agradecimientos

Parte de este trabajo de investigación ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (proyecto TIN2013-45736-R).

Referencias

- [1] Zaltman G. How Customers Think. Boston (MA), Harvard Business School Press, 2003.
- [2] Winkielman P, Knutson B, Paulus M, Trujillo J.L. Affective influence on judgments and decisions: moving towards core mechanisms. *Rev. Gen. Psychol*, vol 11, 2007, pp 179–192.
- [3] Boucsein, W. Electrodermal activity, 2nd ed. Springer Science & Business Media, Newsbury Park, London, New Dehli, 2012.
- [4] Blechert, J., Lajtman, M., Michael, T., Margraf, J., Wilhelm, F.H.. Identifying anxiety states using broad sampling and advanced processing of peripheral physiological information. *Biomed. Sci. Instrum.* 42, 2006, pp. 136–141.
- [5] Clemens K, Turpin G. Life event exposure, physiological reactivity, and psychological strain., *Journal of Behavioral Medicine*, vol 23, sup 1, 2000, pp. 73-94.
- [6] Berntson, G.G., Bigger, J.T., Eckberg, D.L., Grossman, P., Kaufmann, P.G., Malik, M., Heart rate variability: origins, methods, and interpretive caveats. *Psychophysiology* 34, 1997, pp. 623–648.
- [7] Murakami, H., Ohira, H.. Influence of attention manipulation on emotion and autonomic responses. *Percept. Mot. Skills* 105, 2007, pp. 299–308.
- [8] Takahashi K. Remarks on Emotion Recognition From Multi-Modal Bio-Potential Signals, *Proc. IEEE International Conference on Industrial Technology*, 2004, pp. 1138-1143.
- [9] McCarthy, C., Pradhan, N., Redpath, C., & Adler, A. Validation of the Empatica E4 wristband. In *2016 IEEE EMBS International Student Conference*, 2016, pp. 1-4. IEEE.
- [10] Savran A, Ciftci K, Chanel G, Mota J. C, Viet L. H, Sankur B, Akarun L, Caplier A, Rombaut M. Emotion Detection in the Loop from Brain Signals and Facial Images, *Proc. of the eINTERFACE, July 17th – August 11th*, 2006. Dubrovnik, Croatia, 2006, Final Project Report (<http://archive-ouverte.unige.ch/unige:47926>).
- [11] Changchun L, Rani P, Sarkar N. An empirical study of machine learning techniques for affect recognition in human-robot interaction. *Proc. of IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems*, 2005. pp. 2662- 2667.
- [12] Picard R.W, Vyzas E, Healey J. Toward machine emotional intelligence: analysis of affective physiological state, *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, Vol. 23, No. 10, 2001, pp 1175-1191.
- [13] Benedek, M., Kaernbach, C. A continuous measure of phasic electrodermal activity. *J. Neurosci. Methods* 190, 2010, pp. 80–91.
- [14] Venables, P.H., Christie, M.J. Electrodermal activity, in: Martin, I., Venables, P.H. (Eds.), *Techniques in Psychophysiology*. Wiley & Sons, New York, USA, 1980, pp. 3–67.
- [15] Welch, P.D. The use of fast Fourier transform for the estimation of power spectra: a method based on time averaging over short, modified periodograms. *IEEE Trans. audio Electroacoust.* 15, 1967, pp. 70–73.

Study of time-frequency characteristics of single snores: extracting new information for sleep apnea diagnosis

Y. Castillo Escario^{1,2}, D. Blanco Almazán¹, MA. Cámara Vázquez^{1,2}, R. Jané Campos^{1,2,3}

¹ Biomedical Signal Processing and Interpretation Group, Institut de Bioenginyeria de Catalunya (IBEC), Barcelona, Spain

² Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Spain

³ Dept. ESAT, Universitat Politècnica de Catalunya (UPC), Barcelona, Spain

Abstract

Obstructive sleep apnea (OSA) is a highly prevalent chronic disease, especially in elderly and obese population. Despite constituting a huge health and economic problem, most patients remain undiagnosed due to limitations in current strategies. Therefore, it is essential to find cost-effective diagnostic alternatives. One of these novel approaches is the analysis of acoustic snoring signals. Snoring is an early symptom of OSA which carries pathophysiological information of high diagnostic value. For this reason, the main objective of this work is to study the characteristics of single snores of different types, from healthy and OSA subjects. To do that, we analyzed snoring signals from previous databases and developed an experimental protocol to record simulated OSA-related sounds and characterize the response of two commercial tracheal microphones. Automatic programs for filtering, downsampling, event detection and time-frequency analysis were built in MATLAB. We found that time-frequency maps and spectral parameters (central, mean and peak frequency and energy in the 100-500 Hz band) allow distinguishing regular snores of healthy subjects from non-regular snores and snores of OSA subjects. Regarding the two commercial microphones, we found that one of them was a suitable snoring sensor, while the other had a too restricted frequency response. Future work shall include a higher number of episodes and subjects, but our study has contributed to show how important the differences between regular and non-regular snores can be for OSA diagnosis, and how much clinically relevant information can be extracted from time-frequency maps and spectral parameters of single snores.

1. Introduction

Obstructive sleep apnea (OSA) is a chronic respiratory disease with a high prevalence in adult population, especially elderly or obese subjects. Its pathophysiology is characterized by brief and repeated upper airways (UA) obstruction episodes during sleep, which lead to intermittent hypoxia and microarousals. These effects increase the cerebrovascular and cardiovascular mortality and morbidity. Sleep fragmentation produces symptoms like fatigue and daily sleepiness, too, with the subsequent risk of traffic, domestic or work-related accidents.

Despite the severe implications of this disease, most patients remain undiagnosed and untreated. The gold-standard technique for OSA diagnosis is nocturnal polysomnography (PSG). It measures a high number of physiological signals to obtain a diagnostic score: the apnea-hypopnea index (AHI), defined as the total number of apnea or hypopnea episodes per hour. However, PSG presents important limitations due to its complexity and

high cost. For this reason, there is an increasing pressure to develop novel and cost-effective strategies to enable an early OSA detection and reach many more patients.

Recent works [1-2] have highlighted the current interest towards the analysis of acoustic breathing signals, especially snoring. Snores are vibratory sounds produced at anatomical structures of the pharyngeal airway during sleep. They are one of the most common and earliest symptoms of OSA and constitute a signal of high diagnostic value; since they can indicate the degree and origin of UA obstruction. Besides, the required sensor for recording snoring is simply a microphone, largely available in different models, quality and solutions (air-coupled, contact or ambient, among others).

As reported in a recent meta-analysis [2], many methods and different snoring features have been studied, but further investigation is needed to understand which parameters, or combination of them, contain the best predictive value to identify OSA patients and estimate their severity. Most works focus on detecting and quantifying the number of snores and apnea episodes, but little attention is paid to the intrinsic characteristics of single snores. This bottom-up approach could be essential to extract clinically relevant information for diagnosis. For this reason, this work was intended to study the characteristics of single snores from acoustic signals acquired with different throat microphones. The objective was to compare different types of snores from healthy and OSA subjects. Furthermore, another aim was to characterize and compare two commercial tracheal contact microphones to record snoring sounds. This approach would allow studying how sensor response and acquisition protocol can affect the information in the final signals, especially the spectral characteristics of snores.

2. Materials and Methods

2.1. Dataset

Our dataset included different snoring segments extracted from full-night recordings of healthy volunteers and OSA patients from previous databases of our group. Signals had been acquired through a tracheal air-coupled microphone from Snoryzer equipment (SIBEL, S.A.) [3-4] with a sampling frequency of 5 kHz. We selected five different segments (about 2 minutes long except for post-apneic snores segment, of 15 minutes) containing between 15 and 30 episodes of:

- “Regular” or structured snores from a healthy subject (understanding “regular” as steady snoring, with little variation and little or no interruptions)
- Non-regular snores from the same subject
- Regular snores from an OSA subject (AHI=9)
- Non-regular snores from the same OSA patient
- Post-apneic snores from the same OSA patient

On the other hand, we also had a set of signals containing simulated snores from healthy subjects, acquired according to the experimental procedure described below.

2.2. Experimental Approach

We carried out a small experimental approach aimed at characterizing and comparing the responses of two commercial contact microphones: Biopac acoustical transducer (TSD108) and Sleepmate snoring sensor (G-09-01EPP). Four healthy subjects (two men and two women) were asked to simulate some sounds, including vowels, words, breathing, apneas and snores; in supine position. Microphones were attached over the trachea of these subjects, at the level of cricoid cartilage, through adhesives (Bionic S.A.). Signals were recorded using Biopac acquisition system (MP150) and advanced transducer (DA100C), at a sampling frequency of 12.5 kHz. One of the female recordings was discarded since a realistic simulation of snores was not obtained.

2.3. Signals Processing and Conditioning

All signals were processed and analyzed using MATLAB (Mathworks®). First, they were downsampled to 5 kHz, applying an anti-aliasing Chebyshev low-pass filter with a cut-frequency of 2500 Hz ($f_s/2$). Power-line noise (50 Hz and its harmonics) was removed through a Notch filter. We also applied an 8th order Butterworth band-pass filter between 70 Hz and 2 kHz to remove cardiorespiratory and high-frequency noise and keep the band of interest for snores and breathing sounds. Signals from Snoryzer had been previously conditioned, with the same process we used with new signals. Finally, in order to better compare the results, we normalized all the signals.

2.4. Analysis of Snores

All the episodes of single snores were identified and isolated using an automatic events detector. Then we focused on the analysis of spectral and time-frequency parameters of each snore. First, we represented the whole segments with their spectrograms (using 1024 points for the Fast Fourier Transform calculation (NFFT), Hanning window of 500 points and overlap of 450).

Regarding single snores, we used the Welch periodogram with a Hanning window of 1000 points, 50% overlap and NFFT=1024 as Power Spectral Density (PSD) representation and we extracted a series of quantitative parameters from this spectrum for each snore, as detailed in Table 1. We averaged the values for each type of snore and used the Mann-Whitney U-test to study if there were significant differences between each pair of classes. Lastly, we computed a time-expanded representation (window 0.1s) of each snore to find its repetitive pattern.

Parameter	Description
fc	Central frequency
fm	Mean frequency
fp	Peak frequency
fvar	PSD Standard deviation
fq1	First quartile frequency
fq3	Third quartile frequency
IQR	Interquartile range
fmax	Frequency with 95% of energy
%PSD <500 Hz	Percentage of PSD energy below 500 Hz
%PSD 100-500 Hz	Percentage of PSD energy between 100 and 500 Hz
%PSD >800 Hz	Percentage of PSD energy over 800 Hz

Table 1. Spectral parameters computed for each snore from the Welch periodogram

3. Results and Discussion

3.1. Microphones characterization

Spectral and time-frequency representations of the acquired acoustic signals were analyzed for microphone characterization. They evidenced that Sleepmate sensor seriously attenuated high frequencies, what was expected according to its limited frequency response (50-250 Hz). Consequently, although it is described as a “snoring sensor” by the manufacturer, it is not appropriate for recording snore sounds, which can have frequency components up to 2 kHz. Biopac microphone, instead, had a frequency band suitable for recording snores (35-3500 Hz). However, it seemed to have a resonance peak around 1 kHz and not a perfect flat frequency response, apart from capturing higher frequencies than the air-coupled microphone of Snoryzer equipment. This effect has to be taken into account to avoid confusing it with physiological information when interpreting the results.

Biopac microphone had also a higher sensibility than Sleepmate sensor and provided a better signal-to-noise ratio (SNR). This can be critical for OSA detection, since quiet breathing produces very low-amplitude sounds and the effect of background noise can make difficult to distinguish them from apnea episodes. Figure 1 shows how, once the same filtering process has been applied to both channels, the quality of the signal obtained with Biopac microphone is much better than with Sleepmate sensor. For these reasons, we decided to use just this sensor for posterior analysis of snores characteristics.

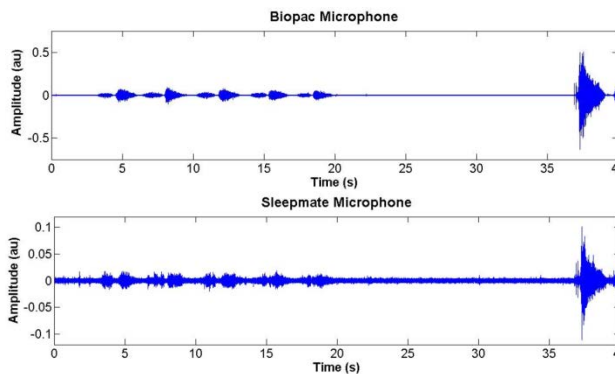


Figure 1. Acoustic signal of breaths and apneas of one subject, recorded with both microphones. Biopac provides a better SNR.

3.2. Analysis of Snores

Figure 2 shows a segment of each type of snore; together with their spectrograms and the Welch periodogram of one episode. Two patterns can be clearly identified. On the one hand, regular snores have most power below 200 Hz and acoustic energy is concentrated around particular frequencies, corresponding to the so-called “formants” of snores (a fundamental frequency around 80 Hz and its harmonics). In contrast, non-regular snores (both from healthy and OSA patients, since their patterns were found to be equivalent), similarly to regular snores from the OSA patient, have a much more scattered spectrum, extending up to 600 Hz and with maximum intensities located at higher frequencies (around 250 Hz). This can also be seen in the periodograms of single snores and agrees with previous studies pointing out the presence of higher frequencies in snores from OSA patients [4]. Post-apneic snores are shorter and explosive sounds and their spectral behavior (not shown here) was found to be similar to the one of non-regular snores. Simulated snores at low frequencies are similar to the healthy regular ones,

but they also present some higher frequency components, probably due to the different frequency responses of the microphones and the resonance peak around 1 kHz. It also has to do with the fact that these are not real but simulated snores.

Figure 3 summarizes the quantitative spectral parameters extracted from the Welch periodograms of single snores and the results of the statistical tests comparing classes. Regular snores have a significantly lower central, mean, peak and first and third quartile frequencies than the non-regular, post-apneic and OSA patients regular snores, whose parameters are similar. Regarding the amount of energy at different frequency bands, all the snores, as expected, concentrate their power below 500 Hz and have small contribution over 800 Hz (slightly larger for simulated snores). However, the percentage of energy at 100-500 Hz is a good indicator to classify snores: regular snores have a PSD concentrated at lower frequencies and thus a smaller contribution at this band than non-regular or OSA snores. According to this parameter, our simulated snores are also classified as regular and healthy.

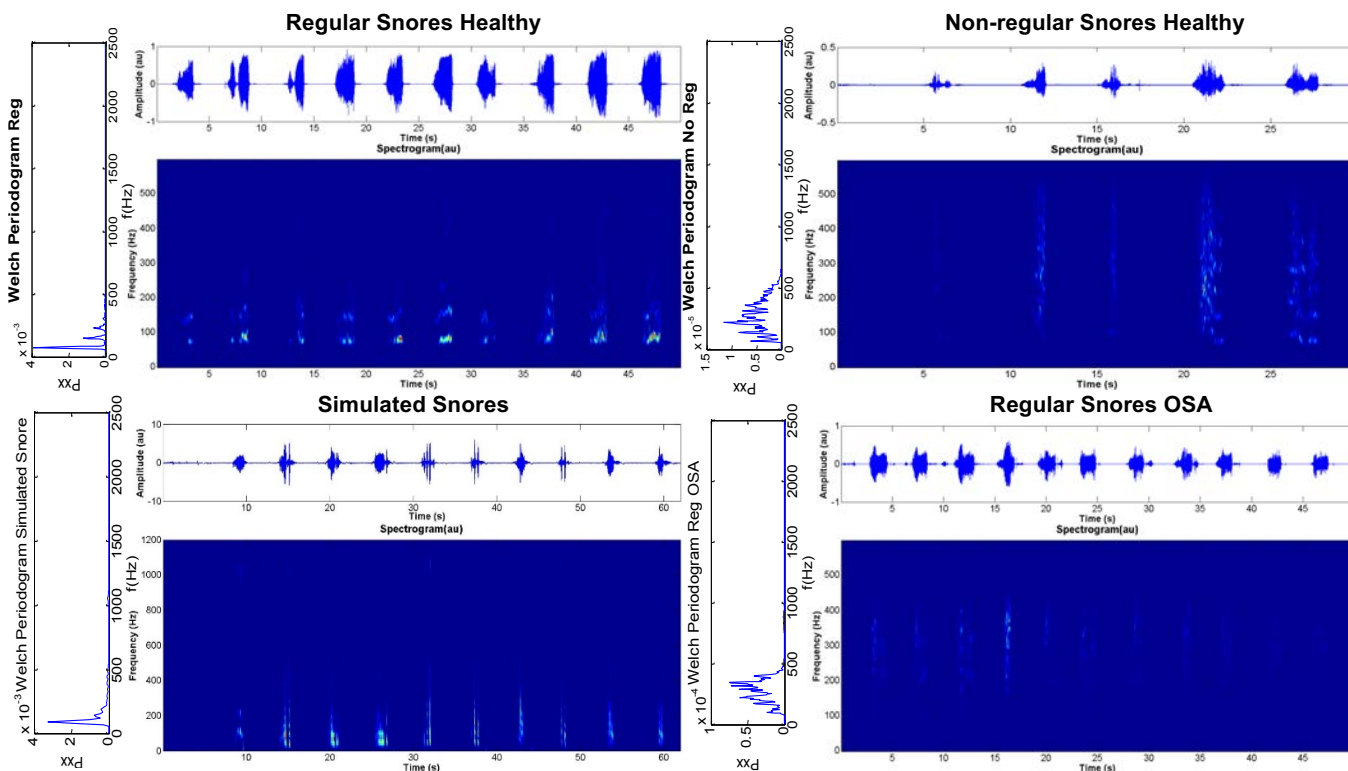


Figure 2: Segments of different types of snore with their spectrograms and the Welch periodogram of one episode. Time-frequency maps are cut at those frequencies concentrating most of the energy, to enable a good visualization.

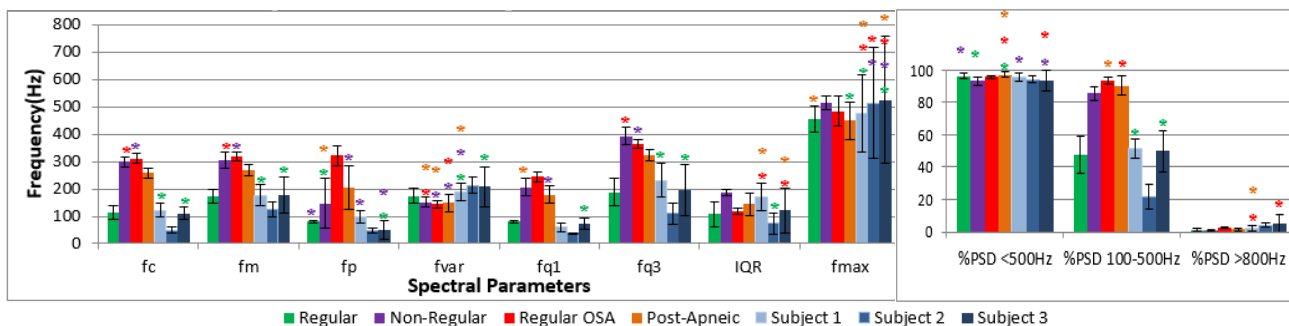


Figure 3: Spectral parameters (mean±standard deviation) extracted from Welch periodograms of each type of snore. Asterisks indicate classes with NO significant differences according to Mann-Whitney U-test (p-value=0.05)

We also plotted a time expanded representation of each snore in order to find their basic repetition pattern and compare them (Figure 4). Regular snores have a very clear deterministic pattern, which is quite similar for all the examples of this class. Their pitch (frequency of repetition) is around 70-80 Hz. However, the pattern of non-regular, post-apneic (not shown) and OSA regular snores have an important stochastic component and it is more difficult to establish the basic pattern and the pitch and there are also important intraclass differences. Simulated snores present a clear deterministic pattern like regular snores, but with noticeable differences in waveforms and pitches (usually lower). These differences were expected, since simulating a snore is difficult and the generation mechanism can involve different anatomical structures than in real snores, so the vibratory pattern is clearly affected.

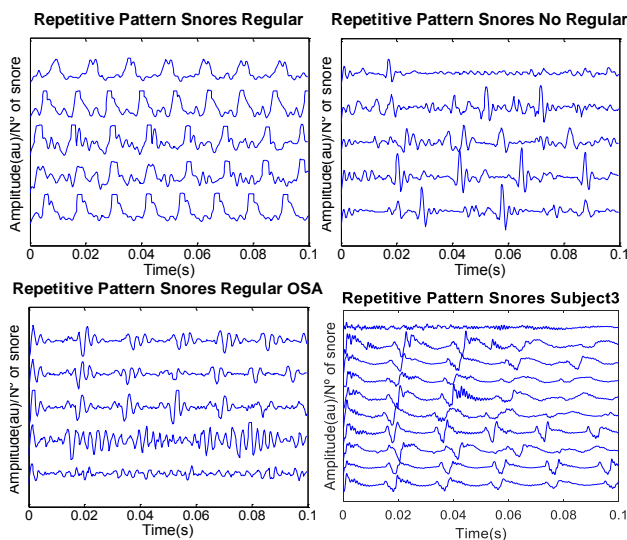


Figure 4: Time-expanded representations showing the basic repetitive pattern of different types of snore

Differences between healthy and OSA regular snores rely on the anatomico-pathological basis of this sleep disorder. While simple snoring in the adult is caused mainly by vibrations of the soft palate, apneic snoring is a tongue based sound related to UA obstruction and impeded movement of the soft palate [1,5]. This had already been studied and could help to discriminate patients, but the important point is that not all the snores of a healthy subject behave like that. On the contrary, most aspects of non-regular snores make them practically equivalent to snores of OSA subjects. Non-regular snores are produced occasionally by simple snorers due to an abnormal desynchronization. This situation is comparable to the pathology, which produces a higher scatter and variability by desynchronizing the natural mechanism of generation of snores and making the patients breath in an unstructured way. That is probably the reason explaining the different patterns that we found and the complex waveforms of non-regular and apneic snores.

4. Conclusions

This work was focused on analyzing the characteristics of single snores of different types, to extract information related to sleep disorders. We found that time-frequency representations, which are rarely used with snoring

signals, are in fact a very useful tool to study their content. Together with certain spectral parameters, they allowed discriminating regular snores of healthy subjects from non-regular snores and all the snores of OSA patients. This is in good agreement with previous works comparing simple and apneic snoring but, most remarkably, highlights the importance of differentiating regular and non-regular snores in diagnostic applications.

On the other hand, we characterized the response of two commercial contact microphones. The importance of this point relies on the fact that selecting an appropriate sensor is the first step to obtain high-quality signals. While Biopac microphone was found to be a good snoring sensor, which could be integrated in platforms of diagnostic devices; Sleepmate sensor had a very limited frequency response, not suitable for this application. Simulated snore patterns looked like healthy regular ones, but we encountered some problems due to the huge variability between subjects when simulating snores.

Therefore, in this work we have characterized the response of two commercial microphones and we have developed an automatic methodology to quantify parameters from single snores, enabling a distinction between snores of different types that could be used for screening or differential diagnosis of sleep-breathing disorders. Future improvements would include studying more episodes of single snores and from more patients, with different degrees of OSA severity. Nevertheless, this approach has shown how time-frequency maps and spectral features differentiating regular and non-regular snores are a powerful source of clinical information. This kind of analysis could help in the near future to develop new non-invasive tools for screening OSA patients and improving the management of their disease.

Acknowledgements

This work was supported in part by the Secretariat of Universities and Research of the Department of Economy and Knowledge of the Government of Catalonia (Consolidated research group GRC 2014 GR 1569) and by the Ministerio de Economía y Competitividad, ref. DPI2015-68820-R (MINECO/FEDER).

References

- [1] Pevernagie D, Aarts RM, De Meyer M. The acoustics of snoring. *Sleep Med Rev* 2010, 14: 131–144
- [2] Jin H, Lee LA, Song L et al. Acoustic analysis of snoring in the diagnosis of obstructive sleep apnea syndrome: a call for more rigorous studies. *J Clin Sleep Med*. 2015, Jul 15;11(7):765-71
- [3] Jané R, Fiz JA, Sola-Soler J et al., Automatic snoring signal analysis in sleep studies, *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. 2003, vol 1, pp 366-369
- [4] Fiz JA, Jané R, Sola-Soler J et al., Continuous analysis and monitoring of snores and their relationship to the apnea-hypopnea index, *Laryngoscope* 2010;120(4):854-62
- [5] Miyazaki S, Itasaka Y, Ishikawa K et al., Acoustic analysis of snoring and the site of airway obstruction in sleep-related respiratory disorders, *Acta Otolaryngol Suppl* 1998;537:47-51

Sensor inteligente para la determinación de la variabilidad de la frecuencia cardiaca en tiempo real

D. Naranjo Hernández¹, O. Galdámez Cruz³, L.M. Roa Romero¹, J. Reina Tosina^{1,2}, G. Barbarov Rostan¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Sevilla y CIBER-BBN, Sevilla, España [dnaranjo@us.es]

² Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad de Sevilla, Sevilla, España

³ Ingeniería Biomédica (Proyecto de Internado), Universidad Iberoamericana, México, México

Resumen

Este trabajo muestra una primera aproximación al diseño, desarrollo e implementación de un sensor inteligente para la medida y detección en tiempo real de alteraciones en la variabilidad de la frecuencia cardiaca (VFC). El sensor inteligente sigue un esquema de diseño modular, el cual está formado por un módulo de sensorización para la captura de señales de electrocardiograma (ECG), un módulo de procesado y un módulo de comunicaciones inalámbricas. A partir de señales de ECG de 5 minutos de duración los algoritmos del módulo de procesado realizan una estimación espectral de la VFC. Los resultados experimentales demuestran la viabilidad del sensor inteligente y los algoritmos de procesado propuestos.

1. Introducción

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte de la población [1]. Se estima que cada año mueren 17.3 millones de personas en todo el mundo como consecuencia de enfermedades cardiovasculares, lo que representa el 30% de todos los casos [2]. La presión arterial alta, el tabaquismo, la diabetes, la obesidad visceral, la dislipemia, la inactividad física y los patrones alimentarios no saludables son los principales factores de riesgo modificables asociados con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares [2]. La disfunción autonómica cardíaca es un factor de riesgo que está también relacionado con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, pudiendo ser medida de forma no invasiva mediante la variabilidad de la frecuencia cardiaca (VFC) [3].

La VFC se refiere al fenómeno de las variaciones a corto y largo plazo de la frecuencia cardiaca (FC) por diversas causas. El sistema nervioso parasimpático provoca la FC y a su vez la presión sanguínea (PS) disminuyan, mientras que el sistema nervioso simpático favorece una acción antagonista, aumentando la FC y la PS. A la interacción de estos sistemas se le conoce como balance simpático-vagal del sistema nervioso autónomo (SNA) [4]. Por tanto, la variabilidad cardiaca es un claro indicativo de las variaciones del balance del SNA [5],[6].

En las últimas décadas se ha tratado de cuantificar la VFC de tal forma que tenga una utilidad clínica. Las mediciones de la VFC se hacen en periodos de largo y

corto plazo. Las grabaciones de largo plazo suelen ser de 24 horas y realizadas mediante un Holter, mientras que las grabaciones a corto plazo son de 2 a 5 minutos generalmente realizadas con un electrocardiograma (ECG) dinámico [7].

Los métodos para medir la VFC pueden clasificarse en métodos del dominio temporal y frecuencial. Los primeros consisten principalmente en un análisis estadístico de la distancia en tiempo que hay entre las ondas R de una señal de ECG (intervalos RR). Sin embargo, sus capacidades son limitadas, ya que no muestran suficiente especificidad y sensibilidad, además de que se necesitan largos periodos de grabación [7].

Los métodos en el dominio frecuencial o estimación espectral de la VFC pueden a su vez clasificarse en métodos paramétricos y métodos no paramétricos. Los métodos no paramétricos basados en la transformada rápida de Fourier (FFT) tienen como principal ventaja una simplicidad y rapidez algorítmica [7], mientras que los métodos paramétricos, como pueden ser los modelos autorregresivos (AR), proporcionan una componente espectral más definida, suavizada y fácil de identificar [7]. Además, para medidas de corta duración los métodos paramétricos proporcionan una mejor resolución espectral a diferencia de los métodos no paramétricos [7].

A partir de estos métodos se obtienen componentes espectrales de baja frecuencia (LF) en el rango de 0.04-0.15Hz, y componentes espectrales de alta frecuencia (HF) en el rango de 0.15-0.4Hz [8]. Estas componentes proporcionan información clínica sobre la variación en el ritmo sinusal del corazón. Las componentes de LF se relacionan con la modulación del sistema simpático, mientras que las componentes de HF se relacionan con el sistema parasimpático.

Hasta el conocimiento de los autores no existen dispositivos que permitan realizar un análisis en tiempo real de la VFC a través de los métodos mencionados anteriormente. Se han propuesto métodos adaptados para el análisis en tiempo real [8] como la transformada de tiempo reducido (STFT), transformada wavelet, transformada de Hilbert-Huang, y a partir de filtros de respuesta impulsional infinita (IIR) [9], pero siempre

ejecutados con señales de ECG procedentes de registros previamente adquiridos.

En el presente trabajo se muestra una primera aproximación de sensor inteligente portable, no obstructivo, de bajo coste y de bajo consumo para la medida en tiempo real de la VFC en el dominio de la frecuencia a través de modelos AR.

2. Materiales y métodos

En el contexto del presente trabajo, se entiende por sensor inteligente como aquel que no solo tiene capacidades de sensorización para la medida de ciertas variables, sino que además está dotado de una unidad de comunicaciones inalámbricas y de capacidad para la realización de un proceso de la información adquirida. El proceso de diseño, desarrollo y evaluación del dispositivo se ha realizado de forma iterativa (o en espiral), testeando los desarrollos antes y más a menudo que en el tradicional ciclo de vida en cascada. En la etapa de diseño y simulación se ha empleado el software Orcad (versión 16.0) de Cadence. Para la implementación de los prototipos se han utilizado los programas CircuitCam (versión 5.2) y BoardMaster (versión 5.0), así como una fresadora ProtoMat S62, todos de LDKF.

Para la validación del sensor inteligente se colocaron tres electrodos ECG de diagnóstico DORMO-TAB sobre el usuario, el primero ubicado debajo la clavícula en el hombro derecho, el segundo debajo la clavícula en el hombro izquierdo, y el tercero en el abdomen en la zona inferior del lado izquierdo. Dichos electrodos estaban conectados al sensor inteligente mediante cables. Posteriormente se realizaron dos experimentos de captura de señales de ECG de una duración de 5 minutos bajo diferentes condiciones sobre un voluntario varón de 23 años de edad, 90 kg de peso y aparente condición sana. En los experimentos el voluntario se mantuvo inmóvil, sin hablar y evitando cualquier tipo de biorretroalimentación. Para el primer experimento se le pidió al usuario que se sentara en una silla de forma cómoda y relajada con los ojos cerrados. El segundo experimento se realizó bajo las mismas condiciones que el primer experimento, pero en este caso el usuario estuvo sometido a estímulos auditivos aleatorios con el propósito de analizar la influencia del SNA ante perturbaciones externas. Cada uno de los experimentos fue a su vez repetido en dos ocasiones diferentes.

3. Resultados de diseño

3.1. Diseño del sensor inteligente

En la Figura 1 se muestra el diseño del sensor inteligente que sigue un esquema modular que comprende los siguientes elementos:

- **Módulo de Sensorización:** constituye el elemento de adquisición de la señal monitorizada. Está compuesto por un sistema de captura de señales ECG basado en un amplificador de instrumentación, una etapa de retro-alimentación activa y una etapa de filtrado de la

señal, todos ellos implementados mediante amplificadores operacionales.

- **Módulo de Procesado:** es responsable del procesado de la señal de ECG y del análisis en frecuencia para la estimación espectral de la VFC. Se ha empleado un módulo PIC32-PINGÜINO-OTG de OLIMEX para el procesado de los datos, que pueden ser enviados inalámbricamente en tiempo real.
- **Módulo de Comunicaciones:** encargado de las comunicaciones inalámbricas bidireccionales del sensor inteligente: en un sentido, de la transmisión del resultado del procesado de la señal hacia un dispositivo externo (un ordenador en esta primera aproximación), y en el otro, de la recepción de comandos de configuración para la personalización de los algoritmos de procesado. En este caso se ha elegido un módulo RN42-I/RM de Microchip para implementar las comunicaciones.

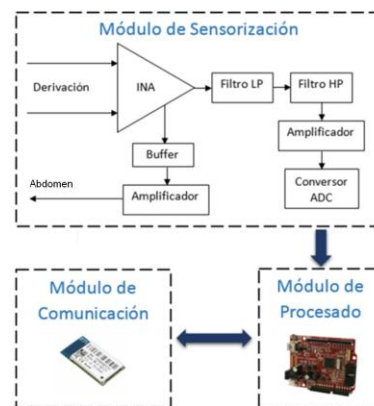


Figura 1. Esquema del diseño modular propuesto.

3.2. Diseño del módulo de sensorización

Para el sistema de captura de señales de ECG se han utilizado resistencias y condensadores de montaje superficial de tamaño normalizado 0603, y amplificadores operacionales de montaje superficial de la serie OPA211 de Texas Instruments. Se eligió el OPA211 ya que tiene como principal característica un bajo ruido a la entrada (80nVpp), y es ideal para aplicaciones médicas.

La etapa de entrada está conformada por un amplificador de instrumentación (INA) con una ganancia aproximada de 33 dB. A través de un seguidor de voltaje se obtiene el modo común del INA, el cual es invertido y amplificado para que posteriormente se retroalimente a través de la pierna derecha y así obtener un aumento del factor de rechazo al modo común, reduciendo el impacto de las interferencias en la señal de salida [10]. Posteriormente se incluyen dos etapas de filtrado de ganancia unitaria. La primera es un filtro paso de baja con frecuencia de corte de 150 Hz que minimiza la presencia de ruido del ECG, y elimina las interferencias de alta frecuencia, y la segunda etapa es un filtro paso de alta con una frecuencia de corte de 0.5 Hz el cual permite en etapas posteriores una mayor ganancia evitando la saturación debido a un alto nivel de continua. Finalmente se emplea una etapa de ganancia realizada con un amplificador inversor con ganancia aproximada de 30 dB.

3.3. Módulo de Procesado

La estimación de la VFC en el dominio de la frecuencia a partir de la señal de ECG es obtenida mediante un algoritmo de cuatro etapas:

- En una primera etapa, la señal S_0 correspondiente a la señal de salida del sensor de ECG, cuya frecuencia de muestreo es de 200 Hz, es elevada a la tercera potencia. De esa forma se obtiene la señal S_1 que permite una mayor definición del complejo QRS.
- En la segunda etapa, a partir de la segunda derivada de S_1 se genera una nueva señal S_2 que corresponde a las siguientes expresiones:

$$S_{2a}[n] = S_1[n+1] - S_1[n]$$

$$S_2[n] = (S_{2a}[n+1] - S_{2a}[n])^2$$

Donde n representa la muestra actual. Este procesado permite una fácil detección de la onda R.

- En la tercera etapa se obtiene la señal S_3 a partir del cálculo de los intervalos RR, expresados en segundos.
- Finalmente, en la cuarta etapa se obtiene la estimación espectral de S_3 utilizando modelos AR por el método Burg de orden N , siendo N un parámetro configurable [11]. Como el tiempo de captura de señal es pequeño, el uso del método Burg es una opción adecuada, ya que tiene como ventaja una mayor resolución y una mayor estabilidad para una pequeña cantidad de datos [12].

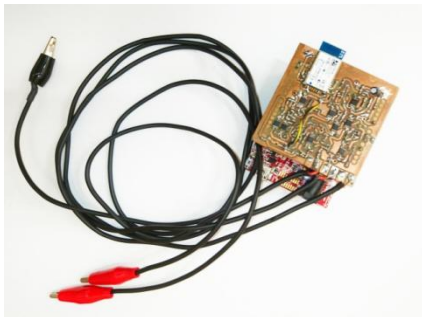


Figura 2. Prototipo del sensor inteligente para la medida de la VFC.

4. Resultados de validación

La Figura 2 muestra una imagen del prototipo del sensor inteligente implementado. En esta primera validación del sensor y los algoritmos, los datos capturados por el dispositivo fueron enviados inalámbricamente a un ordenador donde fueron analizados en tiempo real con el programa Matlab. La Figura 3 muestra el resultado de las tres primeras etapas del algoritmo descrito en la sección anterior para el caso del primer experimento. En la Figura 3.a se observa un fragmento de 20 segundos de la señal de salida S_0 del sensor de ECG. En la Figura 3.b se muestra la señal S_1 como resultado de elevar al cubo la señal S_0 para incrementar la definición del complejo QRS de la señal ECG. La Figura 3.c muestra la señal S_2 , la cual permite una fácil detección de la onda R. Finalmente, en la Figura 3.d se observa la señal S_3 , la cual es el resultado

del cálculo de los intervalos RR (IRR) de la señal S_2 completa. Esta última señal representa una señal temporal distribuida a lo largo del eje horizontal, también temporal, la cual será la base del posterior análisis en el dominio de la frecuencia.

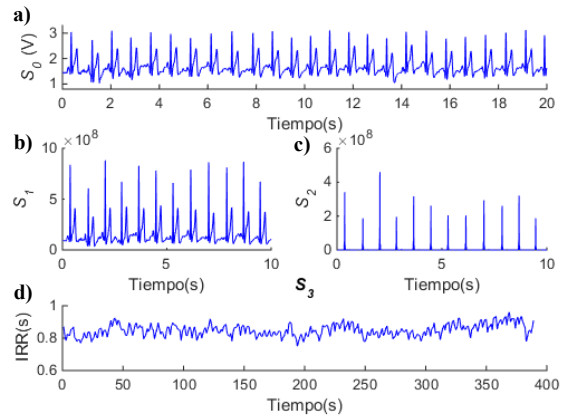


Figura 3. Señales obtenidas en uno de los experimentos: a) fragmento de la señal de salida del sensor de ECG; b) señal S_1 ; c) señal S_2 ; d) intervalos RR de la señal completa.

Para la cuarta etapa del algoritmo, se optimizó el parámetro N del método Burg que se aplica sobre la señal S_3 . Para la elección del orden se probaron diferentes valores desde $N=10$ hasta $N=32$, el cual es el rango recomendado para este tipo de aplicaciones [11], incrementando su valor de dos en dos.

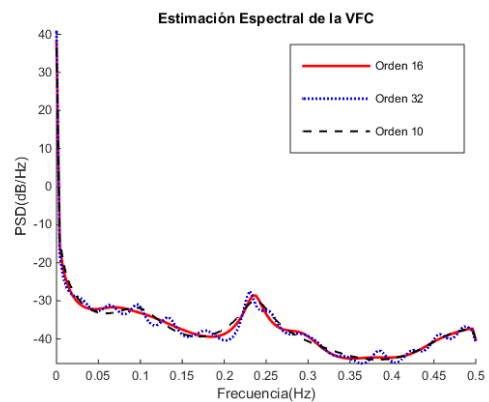


Figura 4. Estimación espectral de la VFC de la señal experimental para algunos de los órdenes analizados del modelo AR por el método Burg.

La Figura 4 muestra los resultados obtenidos para algunos de los valores analizados del parámetro N . Se consideró como valor óptimo aquél que permitía una correcta estimación espectral. Cuanto menor es N la señal es más suavizada y amortiguada, dificultando así la detección de las componentes espectrales, mientras que cuanto mayor es N , se genera un número mayor de picos en el espectro en frecuencia dificultando así su análisis además de requerir un mayor tiempo computacional. Tras este análisis, se estableció $N=16$ como el valor óptimo del parámetro, ya que fue el orden menor que ofrecía una adecuada definición de las componentes espectrales.

En la Figura 5 se muestra una comparativa de la estimación espectral de dos de los experimentos realizados, en la cual se identifican las componentes espectrales LF y HF.

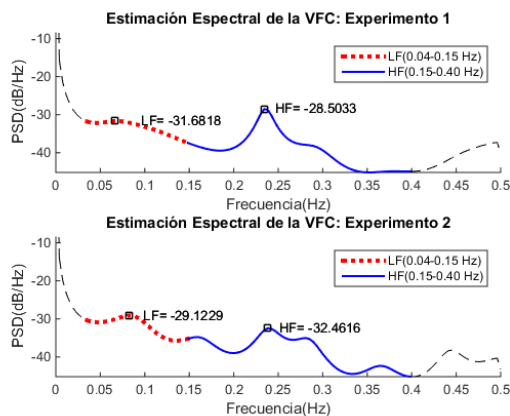


Figura 5. Estimación espectral de la VFC en dos de los experimentos realizados.

En el primer experimento, en el que el usuario estaba relajado, se puede observar que la componente HF es dominante sobre la componente LF. Este resultado es concuerda con el resultado esperado, ya que en este caso debería existir una mayor actividad del sistema parasimpático sobre el simpático, como corresponde con un estado de reposo y relajado. En el segundo experimento el usuario estaba sometido a distintas perturbaciones. En este caso la componente de LF fue dominante, lo que también concuerda con los resultados esperados.

5. Conclusiones

En el presente trabajo se ha mostrado una primera aproximación a un sensor inteligente y un algoritmo de procesado para el análisis espectral de la VFC en tiempo real. Bajo requisitos de bajo coste, portabilidad y bajo consumo de energía, se ha diseñado e implementado el hardware y software necesario para la captura de señales de ECG y su posterior procesado. Se ha realizado una validación cualitativa en dos experimentos diferentes, repetidos dos veces cada uno. En un primer experimento, en el cual el voluntario se encontraba relajado, las componentes espectrales observadas indicaban una mayor actividad del sistema parasimpático sobre el simpático. En un segundo experimento, en el cual el voluntario estuvo sometido a estímulos externos, las componentes espectrales mostraron una mayor actividad del sistema simpático sobre el parasimpático.

Los resultados obtenidos en esta primera aproximación ponen de manifiesto la viabilidad del dispositivo y los algoritmos propuestos para un análisis cualitativo en tiempo real de la influencia del SNA ante distintas perturbaciones.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en parte por la Fundación Progreso y Salud (Junta de Andalucía), bajo los proyectos

PI-0010-2013 y PI-0041-2014, en parte por el Fondo de Investigaciones Sanitarias, Instituto de Salud Carlos III, bajo los proyectos PI15/00306 y, DTS15/00195, en parte por el CIBER-BBN bajo los proyectos INT-2-CARE, NeuroIBC, y ALBUMARK. Se agradece a José L. Urrusti-Alonso las gestiones realizadas para la estancia de Omar Galdámez en nuestro laboratorio.

Referencias

- [1] World Health Organization (WHO), "Media centre (Fact sheets): Cardiovascular diseases (CVDs)", <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/>, Último acceso: Septiembre 2016.
- [2] A. Grenier, P. Brassard, et al., "Rosiglitazone influences adipose tissue distribution without deleterious impact on heart rate variability in coronary heart disease patients with type 2 diabetes", *Clinical Autonomic Research*, pp. 1-8. Article in Press. 2016.
- [3] S. Hillebrand, K.B. Gast, et al., "Heart rate variability and first cardiovascular event in populations without known cardiovascular disease: Meta-analysis and dose-response meta-regression", *Europace*, vol. 15, no. 5, pp. 742-749, 2013.
- [4] E.S. Prakash, "Sympathovagal balance from heart rate variability: an obituary", but what is sympathovagal balance?", *Experimental Physiology*, vol. 97, no. 10, pp. 1140-1140, 2012.
- [5] P.K. Stein, P.P. Domitrovich, H.V. Huikuri, R.E. Kleiger, "Traditional and Nonlinear Heart Rate Variability Are Each Independently Associated with Mortality after Myocardial Infarction", *J Cardiovasc Electrophysiol*, vol. 16, no. 1, pp. 13-20, 2005.
- [6] X. Chen, Y.-Y. Huang, F. Yun, T.-J. Chen, J. Li, "Effect of changes in sympathovagal balance on the accuracy of heart rate variability obtained from photoplethysmography", *Experimental and Therapeutic Medicine*, vol. 10, no. 6, pp. 2311-2318, 2015.
- [7] M. Malik, "Heart Rate Variability: Standards of Measurement, Physiological Interpretation, and Clinical Use", *Circulation*, vol. 93, no. 5, pp. 1043-1065, 1996.
- [8] K. Kudrynski, P. Strumillo, "Real-time estimation of the spectral parameters of Heart Rate Variability", *Biocybernetics and Biomedical Engineering*, vol. 35, no. 4, pp. 304-316, 2015.
- [9] K. Kudrynski, P. Strumillo, "Real-time estimation of heart rate variability parameters from passband filtered interbeat interval series," *Computing in Cardiology*, vol. 38, pp. 297-300, 2011.
- [10] Texas Instruments Healthcare, "Medical applications guide", <http://www.ti.com/lit/sg/slyb108h/slyb108h.pdf>, Último acceso: Septiembre 2016.
- [11] A. Boardman, F.S. Schindwein, A.P. Rocha, A. Leite, "A study on the optimum order of autoregressive models for heart rate variability", *Physiol. Meas.*, vol. 23, no. 2, pp. 325-336, 2002.
- [12] J. Gutierrez, S. Alois, "Comparación de Métodos Autorregresivos para la Detección de Artefactos en Señales EEG", *Workshop Internacional Programa RAICES*, Buenos Aires, Argentina, 2015.

Imágenes Biomédicas 2

Miércoles 23 de Noviembre

Análisis de Imágenes de Resonancia Magnética Cerebrales para la Detección de Tumores mediante la Transformada Watershed

M. San Andrés¹, S. Morales¹, V. Naranjo¹

¹ Instituto de Investigación e Innovación en Bioingeniería, I3B, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain, {marsaan3@etsii.upv.es, sanmomar@i3b.upv.es, vnaranjo@i3b.upv.es}

Resumen

Este trabajo se centra en el desarrollo de un algoritmo para la segmentación de tumores cerebrales en imágenes de Resonancia Magnética. El algoritmo se basa en la aplicación de la transformada watershed con marcadores sobre cada uno de los cortes que conforman el volumen de datos. Además, se ha implementado una interfaz gráfica de usuario que permite, de forma sencilla e intuitiva, la aplicación de la técnica y la correcta visualización de los resultados. Dicha herramienta proporciona al usuario dos alternativas para inicializar la segmentación del volumen, dependiendo del tipo de tumor del que se trate (homogéneo o heterogéneo). El proceso consiste en recorrer todo el volumen de cortes en los que aparece el tumor, segmentando cada uno de ellos en 2D con los marcadores obtenidos del resultado de la segmentación del corte anterior o los elegidos para el primer corte, dependiendo de la alternativa escogida. Los resultados obtenidos dejan patente la superioridad de este método frente al watershed 3D y su aplicabilidad, obteniendo resultados prometedores mediante índices como el coeficiente de Dice (0,9142), Jaccard (0,8466) y las fracciones de verdaderos y falsos positivos (0,9400 y 0,0035).

1. Introducción

En España se detectan cada año alrededor de 3000 nuevos casos de tumores cerebrales [1], siendo una patología potencialmente mortal. Un tumor cerebral se define como un crecimiento anormal y descontrolado de células en el cerebro [2].

La segmentación de tumores cerebrales ha cobrado importancia en los últimos años por su utilidad para la detección y localización del tumor, para ayudar en el diagnóstico y tratamiento, para analizar la evolución del tumor ante una terapia o ayudar en la toma de decisiones [3]. En la actualidad existen métodos de segmentación manual de tumores cerebrales, pero es un proceso largo y tedioso para los especialistas y que presenta una gran variabilidad inter e intra-usuario. Por todo ello, se está investigando cada vez más en la automatización de las técnicas de segmentación.

En general, las técnicas de segmentación de tumores cerebrales se pueden dividir en cuatro grandes grupos: técnicas basadas en umbrales, técnicas basadas en regiones, técnicas de clasificación de píxeles o técnicas basadas en modelos [3]. En este trabajo se ha desarrollado un algoritmo que recorre todos los cortes del estudio 3D de Resonancia Magnética (RM) en los que aparece el tumor, aplicando la técnica de segmentación watershed con marcadores (basada en regiones) en cada uno de ellos. Para ello, se emplean los marcadores obtenidos del resultado de la segmentación del corte anterior o los elegidos para el

primer corte, dependiendo de la alternativa escogida según el tipo de tumor del que se trate (homogéneo o heterogéneo). Un tumor se considera homogéneo si su interior presenta niveles de intensidad similares y heterogéneo en el caso que contenga niveles de intensidad más dispares o tejidos inflamados a su alrededor. Finalmente, se han comparado los resultados obtenidos mediante este método con un algoritmo que aplica la segmentación de tumores cerebrales mediante la técnica watershed con marcadores directamente sobre el volumen 3D de cortes.

2. Materiales

El material de este trabajo ha sido un conjunto de 12 estudios 3D de RM potenciados en T1 de distintos pacientes con tumores cerebrales pertenecientes a dos bases de datos privadas propiedad de Inscanner S.L. y Hospital Dr. Peset. Los equipos de adquisición son Resonancias Magnéticas de 1,5 y 3 Teslas fabricadas por Philips Medical Systems.

3. Metodología

A continuación, se detallan las técnicas empleadas en este trabajo así como los métodos propuestos.

3.1. Morfología matemática

La morfología matemática se entiende como un conjunto de técnicas no lineales utilizadas en el procesado y análisis de imágenes [4]. Las dos operaciones básicas para el procesado morfológico de imágenes son la dilatación y la erosión. La dilatación es una operación morfológica extensiva que hace crecer o hace más gruesos los objetos en una imagen binaria, mientras que la erosión es una operación morfológica antiextensiva que reduce o hace más delgados los objetos en la imagen [5]. La dilatación y erosión se combinan en muchas ocasiones para obtener resultados diferentes. De esta forma, a la dilatación seguida de una erosión se le conoce como cierre, mientras que a una erosión seguida de una dilatación se le conoce como apertura [5]. Además, también es posible realizar los llamados cierres y aperturas por reconstrucción. El objetivo de estas operaciones es recuperar la forma inicial de aquellos objetos de la imagen que no han sido eliminados por la erosión o dilatación [5].

3.2. Eliminación de ruido

El preprocesado es uno de los primeros pasos que se realiza en un análisis de imágenes de RM y se basa principalmente en la mejora de la imagen mediante la eliminación o

reducción de ruido [6] con el objetivo de homogeneizar y separar los niveles de intensidad de los tejidos tumorales y los benignos [7].

Para eliminar el ruido presente en una imagen es posible combinar la apertura y cierre por reconstrucción vistas en el apartado anterior, dando lugar al filtro secuencial por reconstrucción [8] que ha sido utilizado en este trabajo. Éste permite filtrar los objetos de interés manteniendo su forma original.

3.3. Mejora del contraste

El contraste es la diferencia entre los píxeles con niveles de intensidad claros y oscuros en una imagen. Si dicha diferencia es pequeña, la imagen tendrá un pobre contraste, mientras que, si la diferencia es grande, la imagen presentará un alto contraste [9].

Un contraste reducido es también uno de los defectos más habituales que puede presentar una imagen adquirida y, por ello, en este trabajo se ofrece la posibilidad de mejorar el contraste antes de realizar la segmentación. Considerando s como el píxel de salida y $T(r)$ como la transformación de intensidad que tiene lugar sobre el píxel r correspondiente a la imagen de entrada, una forma de ajustar el contraste es estableciendo un límite inferior $liminf$ y un límite superior $limsup$ en la imagen de entrada de la siguiente forma:

$$T(r) = \begin{cases} s = 0 & \text{si } r \in [0, liminf] \\ s = 255 & \text{si } r \in [limsup, 255] \\ s = \frac{r - liminf}{limsup - liminf} \cdot 255, & \text{resto} \end{cases} \quad (1)$$

3.4. Transformada watershed con marcadores

El método de segmentación utilizado en el presente trabajo se basa en la técnica watershed. Para comprenderla adecuadamente basta con considerar la imagen en escala de grises como una superficie topográfica de forma que los distintos valores de intensidad de la imagen sean interpretados como alturas. De esta forma, los niveles de intensidad más bajos se asociarían a las alturas más bajas o cuencas, mientras que los niveles de intensidad más altos con las zonas más altas o cimas. Así pues, las zonas que serían hipotéticamente rellenadas por el agua (cuencas) serían las zonas segmentadas [10].

La clave es modificar la imagen de entrada en otra cuyos niveles de intensidad más bajos, o mínimos locales, se correspondan con los objetos de interés que se desean segmentar. Sin embargo, en ocasiones, pueden aparecer problemas de sobresegmentación, es decir, que se segmenten excesivas regiones por la existencia de demasiados mínimos locales. Por ello, una alternativa es aplicar el watershed con marcadores.

Un marcador es un conjunto de píxeles conectados pertenecientes a una imagen que sustituyen artificialmente a los mínimos locales de la imagen. Podemos distinguir dos tipos de marcadores: el marcador interno, que está relacionado con los objetos de interés y a partir del cual se inicia la "inundación" de las cuencas, y el marcador externo, que está relacionado con la región que no es de interés y limita el área a ser segmentada [11].

Esta técnica puede aplicarse tanto sobre imágenes 2D como sobre volúmenes 3D. Dependiendo del tipo de datos de entrada, los marcadores que se impongan como mínimos también deberán ajustarse, adoptando el tamaño correspondiente.

3.5. Métodos propuestos

Los métodos propuestos se basan en la técnica de segmentación 2D watershed con marcadores. Para ello, se partirá de un corte seleccionado inicialmente del estudio 3D de RM que contiene el tumor y se segmentará dicho corte utilizando la técnica nombrada mediante los marcadores seleccionados manualmente por el usuario. A continuación, se realizarán dos bucles partiendo de ese corte inicial: uno hacia el primer corte y otro hacia el último corte del volumen y se segmentará cada uno de los cortes de cada bucle mediante la misma técnica.

Se han desarrollado dos métodos diferentes: uno destinado a tumores más homogéneos (con niveles de intensidad más similares), y otro para tumores heterogéneos (con niveles de intensidad más dispares o tejidos inflamados a su alrededor que dificultan la segmentación). Ambos funcionan para cualquier tumor pero ofrecen resultados óptimos para el tipo que están diseñados. Se diferencian en la forma en la que los marcadores del corte inicial son obtenidos y posteriormente utilizados en el resto de cortes. En ambos métodos, tanto en el corte inicial como en el resto de cortes, se realizan dos procedimientos: selección de marcadores y aplicación del watershed. Dichos procedimientos serán detallados a continuación.

3.5.1 Selección marcadores: Tumores homogéneos

En este método se utilizan dos marcadores. Por un lado, el marcador interno se obtendrá escogiendo en el corte inicial seleccionado un punto en el interior del tumor donde éste sea claramente visible. Por otro lado, el marcador externo será una circunferencia lo suficientemente grande como para englobar el tumor y centrada en el marcador interno seleccionado por el usuario. La longitud del radio de la circunferencia se estableció de forma empírica como un tercio del diámetro horizontal del cerebro.

A partir del resultado de la segmentación del corte inicial seleccionado, se calcularán los nuevos marcadores para el corte anterior y posterior. El marcador interno será el centroide de la máscara binaria resultante y el marcador externo será el perímetro de la máscara dilatada con un elemento estructurante circular de radio 10.

Para los cortes restantes en cada uno de los dos bucles (es decir, desde el corte inicial hacia el principio o hacia el final del volumen) se realizará el procedimiento anterior, de forma que se obtendrán los marcadores utilizando el resultado de la segmentación del corte anterior.

3.5.2 Selección marcadores: Tumores heterogéneos

En este caso, para la obtención de los marcadores del corte inicial, se deberá rodear de forma manual el contorno del tumor creando una máscara binaria. El procedimiento para hallar los marcadores (interno y externo) a partir de dicha máscara binaria será idéntico al caso anterior.

Para la segmentación del resto de cortes se realizarán nuevamente dos bucles, uno que parta desde el corte inicial seleccionado hasta el primer corte y otro hasta el último corte del volumen. En este caso, los marcadores utilizados para la segmentación de cada corte serán los mismos que los utilizados en la segmentación del corte inicial. Esta decisión se justifica porque en este tipo de tumores es sencillo que en un corte la segmentación no se realice correctamente. Por tanto, si basamos los marcadores de un nuevo corte en la segmentación del corte anterior como hacíamos en el método para tumores homogéneos, se iría acumulando un error en los cortes siguientes que impediría que la segmentación se realizase adecuadamente.

3.5.3 Aplicación del watershed

Una vez han sido seleccionados los marcadores, tanto el corte inicial como el resto de cortes en cada uno de los dos métodos, serán preprocesados mediante un filtro secuencial de apertura y cierre por reconstrucción para la eliminación de ruido (Figura 1b). A continuación, se calculará el gradiente de la imagen preprocesada (Figura 1c) y al resultado se le impondrán como mínimos los marcadores correspondientes (Figura 1d y 1e). Finalmente, se aplicará la técnica de segmentación watershed con marcadores elegida para obtener el resultado final (Figura 1f).

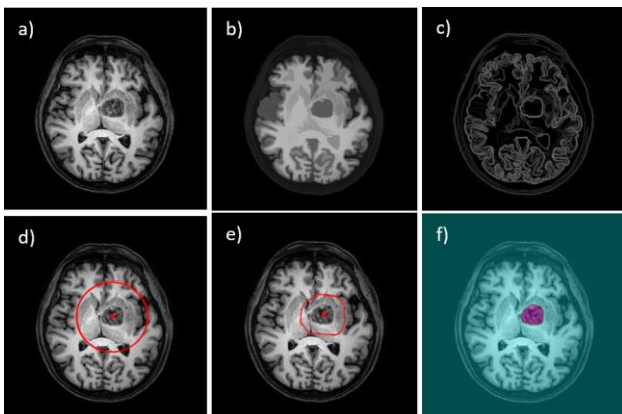


Figura 1. Procedimiento para la segmentación de tumores cerebrales. a) Imagen original. b) Imagen filtrada. c) Gradiente. d) Marcadores del corte inicial por el método para tumores homogéneos. e) Marcadores en el corte inicial por el método para tumores heterogéneos. f) Segmentación del tumor.

4. Resultados

Se ha desarrollado una interfaz gráfica de usuario en MATLAB® (Figura 2), que incorpora los métodos desarrollados. Su objetivo es segmentar, de forma semiautomática e intuitiva, el tumor contenido en un volumen de cortes y permitir la visualización de los resultados de forma adecuada. Haciendo uso de esa herramienta, se han obtenido los resultados mostrados en la Figura 3 y 4 donde se observa la segmentación obtenida en dos estudios diferentes junto con el contorno de la segmentación manual usada como *ground-truth*.

El método watershed 2D, propuesto en este trabajo para tumores homogéneos, ha sido comparado con el uso del watershed 3D. En la Figura 5 se puede observar que los resultados obtenidos con el método 2D son claramente

superiores a los resultados ofrecidos con el método directamente en 3D. La técnica del watershed 3D ha sido aplicada generando un marcador interno 3D a partir del punto seleccionado en el corte inicial (con los 26 vecinos correspondientes) y como marcador externo un cilindro centrado en ese punto y del mismo radio que la circunferencia usada en el método para tumores homogéneos. Para que los resultados fuesen lo más equiparables posible se aplicó el mismo tipo de preprocesado para la eliminación de ruido.

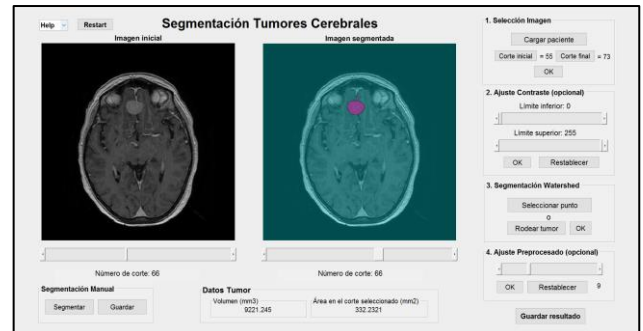


Figura 2. Interfaz gráfica de usuario desarrollada para la segmentación de tumores cerebrales.



Figura 3. Resultados del método para tumores homogéneos.



Figura 4. Resultados del método para tumores heterogéneos.

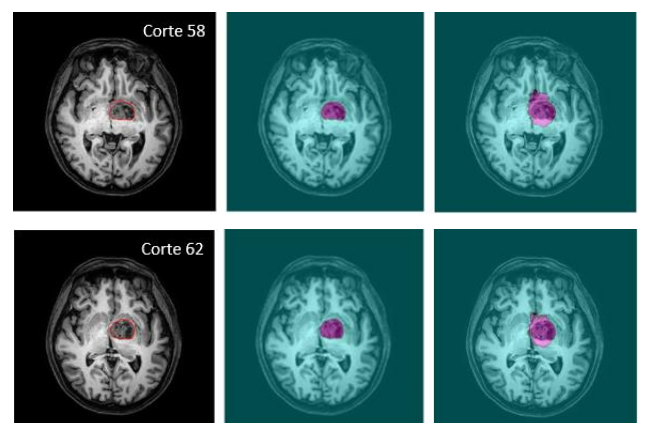


Figura 5. Comparación de resultados en la segmentación de un tumor homogéneo: watershed 2D (segunda columna) y watershed 3D (tercera columna). Ground-truth en la primera columna.

La validación cuantitativa de las técnicas propuestas se ha realizado utilizando la fracción de verdaderos y falsos positivos (TPF y FPF), así como los coeficientes de Dice

(DC) y Jaccard (JC), que son índices que indican el grado de superposición o solapamiento de dos imágenes binarias, siendo 1 cuando la segmentación es perfecta. Ver Tabla 1.

Paciente	Tumor	DC	JC	TPF	FPF
1	HM	0,9493	0,9036	0,9397	0,0014
2	HT	0,9034	0,8255	0,9482	0,0088
3	HM	0,9131	0,8447	0,9544	0,0010
4	HT	0,8762	0,7892	0,8708	0,0053
5	HM	0,9288	0,8702	0,9868	0,0010
Media		0,9142	0,8466	0,9400	0,0035
Desv. típica		0,0274	0,0434	0,0426	0,0035

Tabla 1. Resultados obtenidos sobre cinco pacientes con tumores homogéneos (HM) y heterogéneos (HT).

A la vista de los resultados de la Tabla 1 podemos concluir que, en general, los métodos desarrollados ofrecen buenos resultados. Sin embargo, los resultados son dependientes del paciente y tipo de tumor sobre el que se aplique la técnica de segmentación. Por ejemplo, en el paciente 2 y especialmente en el 4, correspondientes a pacientes con tumores heterogéneos, los resultados decaen en comparación al resto por la presencia de cortes que no han sido segmentados correctamente.

Finalmente, se puede observar en la tabla siguiente cómo el tiempo empleado en la segmentación semiautomática de los cortes con tumor, haciendo uso de los métodos desarrollados, disminuye notablemente frente al empleado en la segmentación manual. La comparación se ha realizado utilizando un ordenador con un procesador Intel Core i7 6500U y una memoria RAM de 8 Gb.

Paciente	Tiempo Seg. Semiautomática (s)	Tiempo Seg. Manual (s)
1	46	402
2	65	805
3	50	493
4	69	875

Tabla 2. Comparación orientativa del tiempo en segundos empleado en la segmentación automática y en la segmentación manual de tumores cerebrales.

5. Conclusiones

El objetivo de este trabajo era desarrollar un algoritmo semiautomático capaz de detectar tumores cerebrales en estudios 3D de RM. Para ello, se ha llevado a cabo una interfaz gráfica de usuario en MATLAB® que permite la segmentación y visualización de los tumores mediante la aplicación de la técnica watershed 2D con marcadores, los cuales se pueden inicializar de dos formas distintas según el tumor sea más homogéneo o heterogéneo.

Los resultados evidencian, por un lado, la superioridad del método propuesto frente al uso del watershed 3D. Además, se han obtenido resultados prometedores en cuanto a tiempo y efectividad en comparación con la segmentación manual calculando el coeficiente de Dice (0,9142), de Jaccard (0,8466) y las fracciones de verdaderos y falsos positivos (0,9400 y 0,0035).

Por otro lado, la segmentación puede dar lugar a errores en tumores bastante heterogéneos o con bordes no delimitados

claramente debido a la presencia de edemas o tejidos inflamados a su alrededor, por lo que una posible línea futura requeriría la mejora del algoritmo en este tipo de casos. Otra línea futura que se deriva de este trabajo sería ampliar el número de pacientes usados en la evaluación de las técnicas.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial (CDTI) bajo el proyecto BRAIM (IDI-20130020). Se desea agradecer a Inscanner S.L. por poner a disposición del proyecto diferentes estudios de pacientes con tumores cerebrales. Además, cabe destacar la labor del Centro de Excelencia e Innovación Tecnológica de Bioimagen de la Consellería de Sanitat del Centro de Investigación Príncipe Felipe, así como la labor de la Unidad de informática y el servicio de Radiología del Hospital Dr. Peset. Ambos han facilitado la utilización del Banco de Imágenes Médicas de la Comunidad Valenciana, para la obtención de más estudios.

Referencias

- [1] Martínez González, M. J., García Ribes, A. y Garaizar Axpe, C. Tumores cerebrales infantiles: diagnóstico y semiología neurológica. Asociación Española de Pediatría, 2008, pp. 203-209.
- [2] Patil, R. C., y Bhalchandra, A. S. Brain Tumor Extraction from MRI Images Using Matlab. *International Journal of Electronics, Communication & Soft Computing Science and Engineering*, vol. 2 no. 1, 2012, pp. 1-4.
- [3] Gordillo, N., Montseny, E. y Sobrevilla, P. State Of The Art Survey On MRI Brain Tumor Segmentation. *Magnetic Resonance Imaging Journal*, vol. 31, 2013 pp. 1426-1438.
- [4] Kaur, B. y Kaur, S. P. Applications of Mathematical Morphology in Image Processing: A Review. *International Journal Of Electronics and Communication Technology*, vol. 4 no. 3, 2013, pp. 15-17.
- [5] Dougherty, G. Digital image processing for medical applications. Editorial Cambridge University Press, 2009.
- [6] Sindhu, A. y Meera, S. (2015) A Survey on Detecting Brain Tumor in MRI Images Using Image Processing Techniques. *International Journal of Innovative Research in Computer and Communication Engineering*, vol. 3 no. 1, 2015, pp. 123-129.
- [7] Dubey, R. B., Hanmandlu, M. y Vasikarla, S. Evaluation of Three Methods for MRI Brain Tumor Segmentation. *Eighth International Conference on Information Technology: New Generations*, 2011, pp. 494-499.
- [8] Pastore, J. I., Moler, E. y Meschino, G. Segmentación de biopsias de médula ósea mediante filtros morfológicos y rotulación de regiones homogéneas. *Revista Brasileira de Engenharia Biomédica*, vol. 21 no. 1, 2005, pp. 37-44.
- [9] Rani, S. y Kumar, M. A Review of Image Contrast Enhancement Techniques. *International Journal of Computer Science & Engineering Technology*, vol. 5 no. 7, 2014, pp. 748-753.
- [10] P. Soille. Morphological Image Analysis: Principles and Applications. Berlin, Germany. Springer-Verlag, 1999.
- [11] Gonzalez, R., y Woods, R. Digital Image Processing. Editorial Prentice Hall, 2002.

3D confocal imaging in CUBIC-cleared mouse heart

I Nehrhoff¹, D Bocancea^{1,2}, J Vaquero^{1,3}, JJ Vaquero^{1,2}, MT Lorrio¹, J Ripoll^{1,2}, M Desco^{1,2,4}, MV Gómez-Gavero^{1,2}

¹ Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. (IiSGM), Madrid, Spain, mdesco@hggm.es

² Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, Spain

³ CIBER de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Madrid, Spain

⁴ Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Madrid, Spain

Resumen

Acquiring high resolution 3D images of the heart enables the ability to study heart diseases more in detail. Here, the CUBIC (clear, unobstructed brain imaging cocktails and computational analysis) clearing protocol was adapted for thick mouse heart sections to increase the penetration depth of the confocal microscope lasers into the tissue. The adapted CUBIC clearing of the heart lets the antibody penetrate deeper into the tissue by a factor of five. The here shown protocol enables deep 3D high-resolution image acquisition in the heart. This allows a much more accurate assessment of the cellular and structural changes that underlie heart diseases.

1. Motivation

Cardiovascular diseases are often accompanied by changes in the vascular network or the myocardium that may result in impaired contractility or relaxation of the ventricles leading to heart failure in almost all cases [1, 2]. Besides advancements in the field, the understanding of the heart structure and its remodeling following disease is still limited by the inability to acquire 3D images of the myocardium and the vasculature at cellular resolution. To study the 3D structure of organs and tissues is a growing trend leading to the fact that researchers work with volumes rather than thin sections [3]. Mostly confocal microscopy, a well-established imaging technique is used for studying tissue with high magnification. But, confocal imaging is limited by the poor light penetration depth of approximately 100 - 200 μm due to light scattering effects being the main reason for the opacity of the tissue [4, 5]. Also, the little antibody penetration represents an additional limitation when performing confocal microscopy in immunohistochemical (IHC) studies using thick tissue sections. In this work, we adapted and optimized the CUBIC clearing protocol for its use in thick mouse heart sections. The here shown protocol minimizes light scattering effects while confocal imaging and significantly increases the light penetration depth of the imaging. Additionally, our adapted protocol allows a far deeper penetration of antibodies into the tissue through solubilizing the tissue. We now achieve a penetration depth of approximately 250 to 550 μm to perform IHC-studies. This protocol provides an alternative to overcome technical limitations of confocal microscopy by enabling the acquisition of high resolution 3D images of cardiac thick tissue slices.

2. Material and Methods

2.1 Mouse Model

In this study, four adult C57BL/6J male mice (stock 0664, Jackson Labs) and four adult male LysMcre⁺/-, mT/mG mice were used. The LysMcre⁺/-, mT/mG mice were generated from crossing of a transgenic double-fluorescent Cre-reporter mT/mG mouse (B6.129(Cg)-Gt(ROSA)26Sortm4(ACTB-tdTomato,-EGFP)Luo/J, stock 7676, Jackson Labs) with a transgenic LysMcre mouse (B6.129P2-Lyz2tm1(cre)Ifo/J, stock 4781, Jackson Labs). They expressed membrane-targeted tandem dimer (Td) Tomato, a red fluorescent protein, in all cells except in those with a myeloid cell lineage. In these cells membrane-targeted enhanced green fluorescent protein (EGFP) is expressed due to the Cre-mediated excision of floxed STOP codons in the transgene [6]. All experimental procedures were conducted in conformity with European Union Directive 2010/63/EU and were approved by the Ethics Committee for Animal Experimentation of hospital (Comité de Ética en Experimentación Animal, CEEA; number ES28079000087).

2.2 Animal Perfusion and Tissue Processing

For the non-cleared tissues, mice were transcadiacally perfused with 20 ml of ice cold PBS followed by 50 ml of 4% paraformaldehyde (PFA). After the dissection of the hearts they were post-fixed in PFA 4% overnight. They were then embedded in an agarose 2% block and thick coronal sections of 750 μm starting at the apex were cut by a vibratome. The sections were counterstained with 0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ DAPI for 2.5 h and washed with PBS. They were also stored in PBS at 4°C until imaged. For the cleared hearts, mice were perfused transcadiacally following the CUBIC perfusion protocol [7, 8] starting with 30 ml of ice cold PBS, 150 ml of ice cold 4% PFA, 20 ml of PBS to wash the fixative solution and then 30 ml of diluted (1:1 in distilled water) CUBIC-Reagent 1 (R1). R1 consists of Urea, 2-hydroxypropyl, Triton X-100 and distilled water. Hearts were dissected, embedded in 2% agarose and cut into 750 μm thick transversal sections in the same manner as the non-cleared tissue. Sections were further cleared by immersion in R1 for 24 h, washed in PBS, counterstained with 0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ DAPI for 2.5 h, washed again in PBS and incubated within the CUBIC-

Reagent 2 (R2) for 24 h. Sections were stored in R2 at 4°C until imaged. R2 consists of Sucrose, Urea, Nitrilotriethanol and distilled water. Incubation times were optimized for the clearing of the heart slices and result in a 70% shorter protocol compared with a whole organ clearing protocol.

2.3 Immunohistochemistry

Non-cleared tissues: Heart sections were incubated with 0.02 mg/ml of anti-CD31 (ab28364, Abcam) overnight (o.n.), washed with 0.1% Triton X-100 in PBS (PBS-T) and incubated with 3,3 µg/ml of anti-rabbit secondary antibody (Alexa 647, Molecular Probes). Together with the secondary antibody 0.25 µg/ml of DAPI (DAPI, Molecular Probes) were incubated for six hours. After the secondary antibody was washed off with PBS-T, the sections were stored in PBS at 4°C until images were acquired.

Cleared tissues: Heart sections were immersed in R1 for 24 h. Afterwards, sections were washed in PBS and incubated with 0.02 mg/ml of anti-CD31 o.n. On the next day, sections were washed and incubated with 3,3 µg/ml of secondary antibody together with 0.25 µg/ml of DAPI for 6 h. Then the Sections were incubated in R2 o.n. and stored in R2 at 4°C until the acquisition of images.

2.4 Confocal Image Acquisition

Images of non-cleared and cleared sections were acquired with a Leica TCS SPE Confocal Microscope. For the acquisition an ASC APO 10x/0.30 DRY and an ACS APO 20x/0.60/IMM objective were used. The “despeckle” filter was applied to images and the image contrast was linearly adjusted. To obtain z-intensity profiles, the images were thresholded to exclude the intensity values of the background and include only the intensity values of the nuclei. The illumination powers of the lasers were the same for both cleared and non-cleared tissue. All image processing was done with ImageJ software (ImageJ 1.50e, National Institute of Health, USA).

3. Results and Discussion

In this work, we modified the CUBIC clearing protocol to process mouse heart sections while reducing the incubation times of around 70% at several steps. We first used LysMcre[±],mT/mG transgenic mice to determine the potential of the modified CUBIC clearing protocol. Visual inspection of the tissues confirmed the transparency of the heart sections treated with the adapted CUBIC protocol compared with the opaque tissue treated with the standard perfusion and fixation protocol [Fig. 1(A) and 1(D)]. In the non-cleared control heart sections, we achieved an imaging depth of 150 µm with the 10x magnification objective [Fig. 1(B), 1(G), 1(I)] and 90 µm with a 20x objective [Fig. 1(C) and 1(H)]. In contrast, clearing with the adapted CUBIC protocol allowed an imaging depth of 550 µm with the 10x magnification objective [Figs. 1(E), 1(G), 2(D)] and more than 250 µm with the 20x objective [Figs. 1(F) and 1(H)]. Its working distance and not the signal intensity was the limiting factor using the 20x objective. For the 10x objective,

clearing the heart sections with the adapted CUBIC protocol enables a 6-fold deeper of the imaging lasers compared to the non-cleared tissue and a 4-fold higher light penetration using the 20x objective. In order to achieve the most straightforward procedure the protocol has been adapted by using the shortest possible incubation times. The increase of the signal intensity which can be observed in the cleared tissue at the very beginning of the graphs (0 – 50 µm) in Fig.1 may be due to the composition of reagent 1, which includes Triton-X100 and polyalcohols that increase cell permeability and thus enhance the dye penetration.

We also investigated in wild-type C57BL/6J mice whether the adapted CUBIC clearing protocol improves the penetration of antibodies into the tissue. A major hurdle in the study of 3D protein distribution in the heart still is the little antibody penetration. Here, we used a primary antibody that recognizes the endothelial cell protein CD31 and its corresponding secondary antibody. Whereas the antibodies only entered approximately 50 µm into the non-cleared heart sections [Fig. 2(A)], it entered up to 250 µm deep into the cleared heart sections [Fig. 2(B)].

These results show, that the clearing protocol improves antibody penetration into the cardiac tissue. Using the clearing protocol leads to a relevant additional advantage that will allow to obtain 3D images of the distribution of proteins and cells in cardiac tissue using conventional confocal microscopy. Also with light sheet microscopy and optical coherence tomography the usage of this clearing protocol may offer potential advantages. Clearing thick pieces of tissue, such as complete mouse organs may enable 3D image acquisition with these techniques. As long as the section thickness is maintained, heart tissue of other widely used experimental animals could also be cleared and IHC-stained using the provided protocol.

4. Conclusion

For the acquisition of 3D images of thick cardiac tissue sections with high magnification and subcellular resolution using confocal microscopy, we here describe an adapted CUBIC clearing protocol that makes this possible. Also, the modified clearing protocol could be used with light sheet microscopy and OCT imaging techniques to obtain 3D images of thick heart samples.

The combination of the modified CUBIC clearing technique with IHC methods provide a new tool for researchers interested in gaining more profound information of protein and cell distribution within the heart.

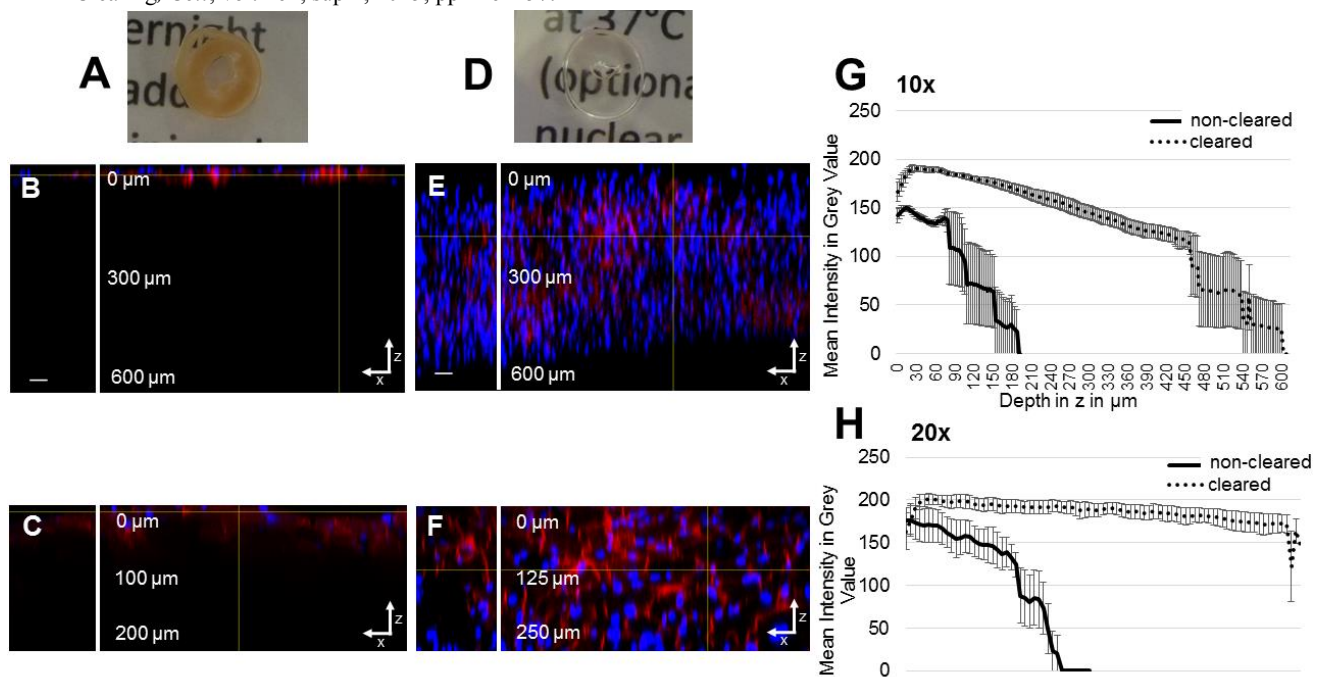
Acknowledgements

We are grateful to Alexandra de Francisco, Yolanda Sierra, and Fernando Asensio for assisting with the perfusion experiments and we thank Rafael Samaniego and Paloma Sánchez Mateos for the support with the confocal image acquisition.

References

- [1] Pasipoularides A, Mechanotransduction Mechanisms for Intraventricular Diastolic Vortex Forces and Myocardial Deformations: Part 1, *Journal of Cardiovascular Translational Research*, vol 8, sup 1, 2015, pp 76–87.
- [2] Pasipoularides A, Mechanotransduction Mechanisms for Intraventricular Diastolic Vortex Forces and Myocardial Deformations: Part 2, *Journal of Cardiovascular Translational Research*, vol 8, sup 5, 2015, pp 293–318.
- [3] Moy AJ, Lo PC, and Choi B, High-resolution visualization of mouse cardiac microvasculature using optical histology, *Biomedical Optics Express*, vol 5, sup 1, 2014, pp 69-77.
- [4] Sivaguru M, Fried G, Sivaguru BS, Sivaguru VA, Lu X, Choi KH, Saif MT, Lin B and Sadayappan S, Cardiac muscle organization revealed in 3-D by imaging whole-mount mouse hearts using twophoton fluorescence and confocal microscopy, *Biotechniques*, vol 59, sup 5, 2015, pp 295–308.
- [5] Richardson DS and Lichtman JW, Clarifying Tissue Clearing, *Cell*, vol. 162, sup 2, 2015, pp 246–257.

- [6] Muzumdar MD, Tasic B, Miyamichi K, Li L and Luo L, A global double-fluorescent Cre reporter mouse, *Genesis*, vol 45, sup 9, 2007, pp 593–605.
- [7] Susaki EA, Tainaka K, Perrin D, Kishino F, Tawara T, Watanabe TM, Yokoyama C, Onoe H, Eguchi M, Yamaguchi S, Abe T, Kiyonari H, Shimizu Y, Miyawaki A, Yokota H and Ueda HR, Whole-Brain Imaging with Single-Cell Resolution Using Chemical Cocktails and Computational Analysis, *Cell*, vol 157, sup 3, 2014, pp 726–739.
- [8] Susaki EA, Tainaka K, Perrin D, Yukinaga H, Kuno A, Ueda HR, Advanced CUBIC protocols for whole-brain and whole-body clearing and imaging, *Nature Protocols*, vol 10, sup 11, 2015, pp 1709-1727.



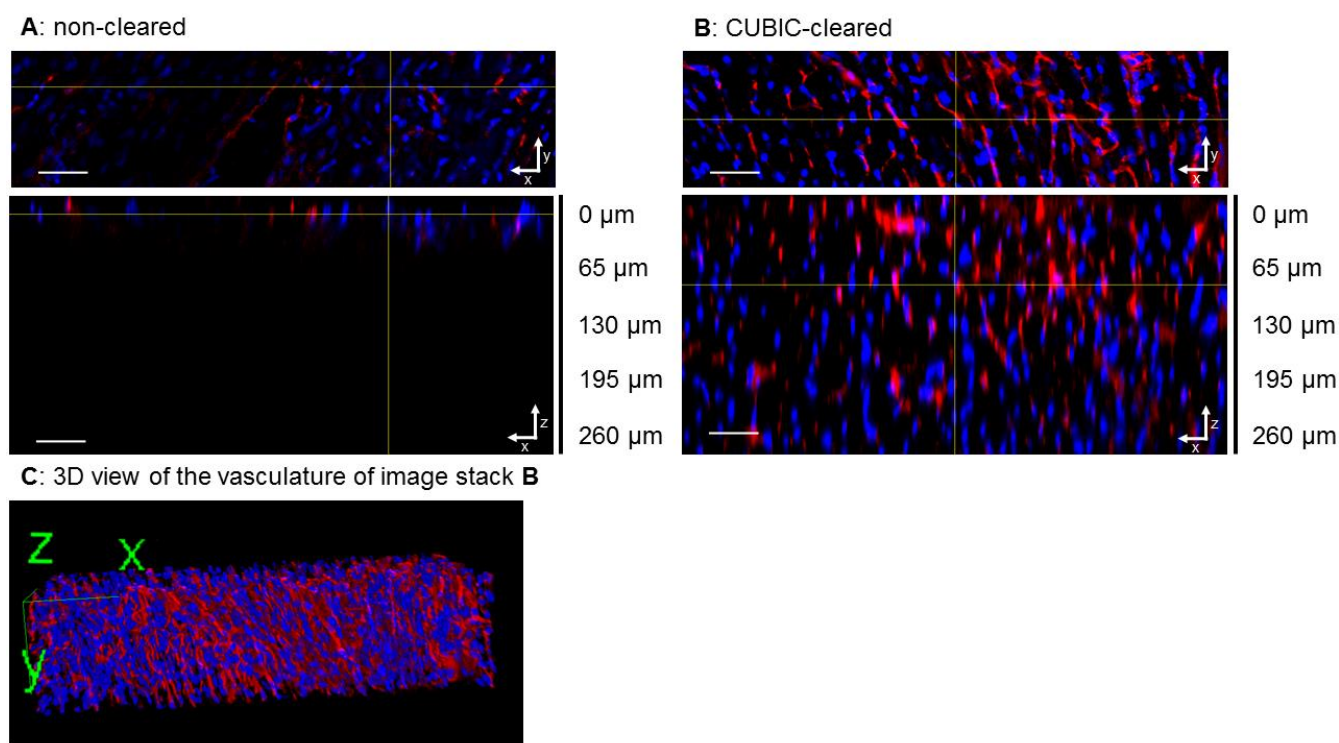


Figure 2: The adapted CUBIC protocol improves the antibody penetration into cardiac tissue sections. **A, B,** Control sections (A) and sections cleared using the modified CUBIC protocol (B) were immunohistostained using an anti-CD31 antibody and confocal images of the XY plane and the corresponding XZ plane were obtained. **C,** 3D view of the vasculature of the CUBIC cleared tissue. Red, anti-CD31; Blue, DAPI. Scale bars in all images: 50 μm .

Evaluación del nivel de gravedad de la retinopatía diabética mediante características visuales y deep learning

I. Fondón García¹, A. Sarmiento Vega¹, M. A. Fernández Granero², Qaisar Abbas³, Soledad Jiménez Carmona⁴, Pedro Alemany Márquez⁴

¹Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, {irenef, [sarmiento](mailto:sarmiento@us.es)}@us.es

²Grupo de Ingeniería Biomédica y Telemedicina, Universidad de Cádiz, Cádiz, España, ma.fernandez@uca.es

³Ibn Saud Islamic University, Riyadh, Saudi Arabia, qaisarabbaspd@gmail.com

⁴Departamento de Cirugía, Universidad de Cádiz, Cádiz, España, {soledad.jimenez, [pedromaria.alemany](mailto:pedromaria.alemany@uca.es)}@uca.es

Resumen

Para el diagnóstico, seguimiento y correcto tratamiento de la retinopatía diabética (RD), es imprescindible una evaluación del nivel de gravedad que presenta el paciente, algo que sigue constituyendo un reto, tanto para los médicos especialistas, como para los sistemas de diagnóstico asistido por ordenador (CAD). En el artículo que se presenta, se propone un sistema de reconocimiento automático de los cinco niveles de gravedad de retinopatía diabética (NGRD), que no necesita la segmentación previa de las lesiones que caracterizan la enfermedad. A partir de la imagen de fondo original, el sistema NGRD propuesto, construye un vector de parámetros visuales, formado por los descriptores C-SIFT (Color Scale Invariant Feature Transform) y GLOH (Gradient Location and Orientation Histogram). Posteriormente, a cada imagen se le asigna el correspondiente nivel de gravedad, mediante la clasificación de los vectores de parámetros, utilizando una red neuronal de aprendizaje profundo (DL-RN). El sistema NGRD se ha evaluado en una base de datos de 250 imágenes de fondo de ojo (50 por categoría), obteniéndose una sensibilidad (SN) del 91.87%, especificidad (SP) del 93.80% y un Área Bajo la Curva ROC (ABC) de 0.904.

1. Introducción

El término diabetes, hace referencia a un grupo de enfermedades metabólicas relacionadas con niveles altos de glucosa. Su gravedad es alta, con unos 336 millones de personas afectadas en la actualidad [1]. Por otro lado, su incidencia se encuentra en aumento, estimándose que en 2030 constituirá la séptima causa de mortalidad en el mundo [2]. La retinopatía diabética (RD) es una de las complicaciones de la diabetes, siendo una causa definitiva de ceguera. La RD afecta a más del 80% de los pacientes que han tenido diabetes durante 10 años o más. A pesar de no tener cura, un diagnóstico temprano y una monitorización continua de la RD puede reducir su progresión [3]. Para el diagnóstico de la RD, expertos clínicos, emplean cámaras no midriáticas junto para evaluar el nivel de gravedad de los pacientes de diabetes [4], en base a la presencia de determinadas lesiones que presentan las imágenes: microaneurismas (MAs), hemorragias (HRs), exudados duros (EDs) y manchas algodinosas (MALs) [5]. Estas lesiones presentan aspectos diferentes tal y como puede apreciarse en la Figura 1.

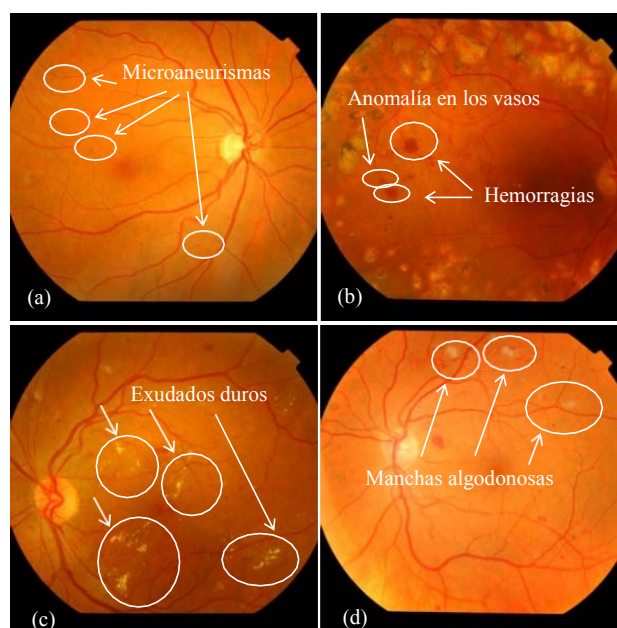


Figura 1: Ejemplo de lesiones relacionadas con la retinopatía diabética: (a) microaneurismas, (b) hemorragias y anomalías en los vasos, (c) exudados duros, (d) manchas algodinosas.

En la práctica, existen dos tipos principales de RD: RD no proliferativa (RDNP) y RD proliferativa (RDP) [5]. La RDNP se subdivide según el nivel de daño que presenta la retina en: ligera, moderada o severa. Las categorías, por tanto, en las que se clasificaría una imagen de fondo de ojo, serían: normal, RDNP ligera (RDNPL), RDNP moderada (RDNPM,) RDNP severa (RDNPS) y RDP. En el caso de una imagen normal no se observan lesiones relacionadas con la RD, ni derrames de los vasos sanguíneos. La RDNP ligera se caracteriza por presentar al menos un MA con o sin HRs leves, EDs y MALs. En el caso de RDNP moderada, deben existir MAs y HRs que si son moderadas deben encontrarse en los en cuatro cuadrantes pero si son severas. El diagnóstico de la RDNP severa se basa en la regla 4-2-1, esto es: MAs o HRs severas en cuatro cuadrantes, arrosamiento de los vasos en al menos dos cuadrantes y otras anomalías moderadas o severas de los vasos en al menos un cuadrante [6]. Mientras, la RDP está altamente caracterizada por una proliferación de neovasos y grandes HRs [7].

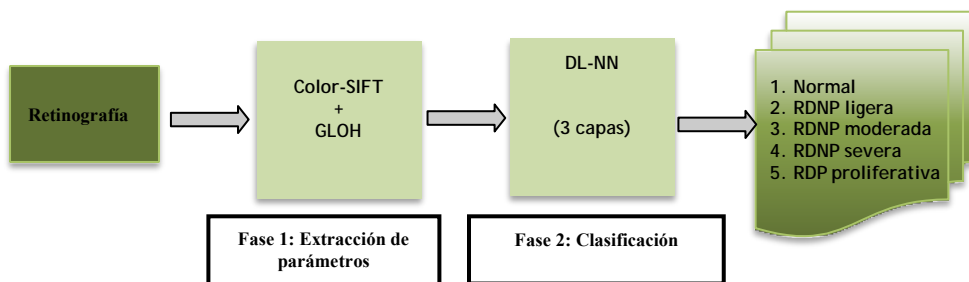


Figura 2: Diagrama de flujo del sistema NGDR de clasificación en cinco niveles de RD con algoritmos de deep-learning.

Como vemos, cada uno de los cinco niveles de RD se caracteriza por la presencia de determinados elementos en localizaciones concretas. Esto hace que su diagnóstico esté basado en el estudio visual de la apariencia de la imagen de fondo de ojo. La identificación de estas cinco categorías es, por tanto, una tarea compleja para los oftalmólogos. Por otro lado, la subjetividad inherente a la clasificación humana hace que el diagnóstico dependa de la experiencia del especialista.

Un sistema de diagnóstico automático sería de gran utilidad en el caso de programas de cribado, donde se necesita el análisis de grandes grupos de imágenes de la forma más eficiente y precisa posible [8,9]. En estudios anteriores, se han propuesto sistemas de diagnóstico asistido por ordenador (CAD) para hacer frente a este problema [10-13]. El inconveniente es, que estas herramientas dependen, de la correcta detección y segmentación de las lesiones relacionadas con la RD que caracterizan cada etapa. Su funcionamiento se basa en una precisa fase de segmentación de la imagen, algo difícil de conseguir y con un alto coste computacional. Por otra parte, los errores de este paso se pueden propagar al resto del sistema. La mayoría de estos estudios previos, se centran únicamente en la diferenciación entre RDNP y RDP, siendo muy pocos los que tratan de realizar una clasificación de las imágenes en un mayor número de niveles [11-13].

Este artículo pretende abordar el problema de la clasificación de imágenes de fondo de ojo en cinco niveles de gravedad de RD, sin segmentación previa de lesiones, sino utilizando descriptores visuales básicos y técnicas de aprendizaje profundo o deep-learning [14].

2. Métodos

El diagrama de flujo, del sistema propuesto de reconocimiento automático de los cinco niveles de gravedad de RD, NGRD, se puede ver en la Figura 2 con una fase de extracción de características y otra de clasificación.

Para caracterizar las imágenes sin necesidad de una segmentación previa de sus principales elementos, necesitamos descriptores que sean robustos, es decir, los parámetros extraídos deben ser invariantes al mayor número de cambios y deben ser distintivos: deben

contener la información mínima que diferencia unas imágenes de otras. Por este motivo, se han seleccionado los Color-SIFT (Color Scale Invariant Feature Transform), debido a su invariancia geométrica y de color y a su alto rendimiento descriptivo [15].

En la técnica SIFT se encuentran las coordenadas de puntos clave de la imagen en gris a una determinada escala. A cada uno de esos puntos, se le asigna una orientación y se le calcula un descriptor, que suele consistir en el vector resultante de la concatenación de una serie de histogramas. Estos histogramas, se calculan a partir de los valores de orientación y magnitud de los píxeles pertenecientes a una vecindad de tamaño determinado alrededor del punto.

Con el objetivo de obtener los puntos de interés, para cada imagen se construye una pirámide Laplaciana que se aproxima mediante filtros Gaussianos con varianza 1.4. Teniendo en cuenta esta representación de la imagen, los puntos de interés se obtienen tomando los máximos en esa representación tridimensional de la imagen (coordenadas espaciales más escala). Como descriptores asociados a cada punto, se emplea la concatenación de histogramas en una vecindad 16x16. La diferencia es que estos histogramas de gradiente se calculan en un espacio obtenido mediante una combinación lineal del espacio RGB, basada en la teoría de Kubelka-Munk [15]. De esta forma, se pretende conseguir una estabilidad de los parámetros ante cambios fotométricos.

Por otro lado, para los puntos de interés ya calculados, se ha seguido la técnica GLOH [16] (Gradient Location and Orientation Histogram), que presenta una estructura similar a la SIFT, es decir, se localizan los puntos de interés, se calculan los gradientes locales y se estiman las orientaciones de los puntos a partir de ellos. La diferencia radica en el cálculo del descriptor, ya que, en lugar de obtener los histogramas para vecindades cuadradas alrededor del punto seleccionado, se calculan en rejillas con geometría log-polar (3 radios y 8 ángulos para dos de ellos). Los valores de orientaciones posibles se fijan a 16, por lo que, al concatenar los histogramas, se obtiene un vector de longitud 272 por cada punto característico. Para reducir la dimensionalidad, se aplica la técnica de análisis de componentes principales o PCA y los 64 autovectores mayores son los que se conservan como descriptores.

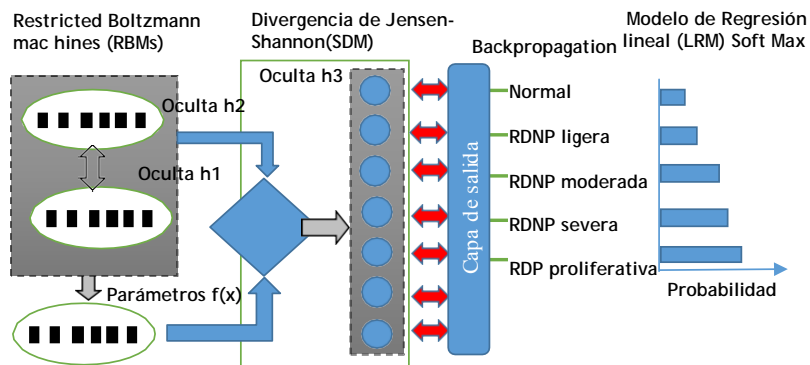


Figura 3: Modelo deep-learning mediante red neuronal (DL-RN) para la clasificación de los estados de RD con diferentes capas.

Finalmente, uniendo en un único vector de características los parámetros C-SIFT y GLOH, obtenemos el vector descriptor final para cada punto de interés. El vector media de cada uno de los vectores obtenidos, representa a la imagen para su clasificación, utilizando para ello un clasificador basado en redes neuronales y deep-learning (DL-NN) [14], [17-18](Figura 3).

Una red neuronal de aprendizaje profundo (DL-RN), consiste en una red de más de dos capas, donde cada una se entrena con un grupo de características basándose en la salida de la capa anterior, con una complejidad creciente conforme se avanza en la red. En el caso de este artículo, el número de capas es igual a tres. A su vez, se ha añadido un último paso de propagación hacia atrás supervisado para un ajuste fino de los pesos:

- Capa base: Se utilizan máquinas de Boltzmann restringidas, esto es, un tipo particular de campos aleatorios de Markov con una arquitectura de dos capas [19].
- Capa oculta: Ajusta los pesos generados en la capa base, buscando el mayor poder discriminativo mediante el uso no supervisado de la divergencia Jensen-Shannon [20].
- Capa de predicción: Se genera con un modelo Softmax de regresión sigmoïdal de forma supervisada. Como función de pérdidas se ha usado la correlación cruzada [18].
- Ajuste fino hacia atrás: En este último paso se emplea el error obtenido en la capa de predicción, propagándolo hacia atrás en la red para ajustar adecuadamente los pesos de las capas [14].

3. Resultados

El método se ha probado en un conjunto de retinografías obtenidas gracias al Hospital Puerta del Mar (Cádiz, España). Esta base de datos privada consiste en 250 imágenes de la retina, obtenidas mediante una cámara CCD con un retinógrafo no midriático, modelo TRC NW 200 de Topcom y fue creada gracias al trabajo realizado dentro del programa de detección temprana de retinopatía diabética de la Junta de Andalucía. Cada imagen se capturó usando 8 bits por plano de color y un nivel de resolución de 1960×1960 píxeles. El conjunto fue

clasificado manualmente por dos oftalmólogos expertos en los cinco niveles de gravedad de retinopatía diabética descritos anteriormente: Normal, RDNP ligera, RDNP moderada, RDNP severa y RDP, existiendo 50 imágenes en cada categoría.

El rendimiento del sistema NGRD se ha medido estadísticamente en términos de análisis ROC, de sensibilidad y de especificidad. La Tabla 1 presenta los resultados obtenidos, apreciándose unos valores de calidad elevados.

Nivel de gravedad	SN (%)	SP (%)	ABC	E
1. Normal	94.70	97.60	0.901	0.453
2. RDNP	92.50	96.99	0.934	0.467
3. RDNPM	89.45	93.30	0.916	0.553
4. RDNPS	87.43	92.26	0.882	0.687
5. RDP	88.30	91.84	0.879	0.514
Resultados (media)	91.87	93.80	0.904	0.535

E=desviación estándar media del error de entrenamiento, SN=Sensibilidad, SP=Especificidad y ABC=Área bajo la curva ROC.

Tabla 1. Rendimiento del sistema NGRD para el reconocimiento de cinco estados de RD en 250 imágenes de retina.

Técnica	Normal (%)	RDNP (%)	RDPS (%)
Akkram [17]	10	17	16
Verma [21]	12	18	19
NGDR propuesto	4	7	5

Tabla 2. Porcentajes de error obtenidos por la herramienta propuesta y otras dos técnicas del estado del arte, al realizar una clasificación en tres niveles de gravedad.

Por otro lado, se han comparado los resultados obtenidos mediante el sistema NGRD propuesto con los de dos de las técnicas del estado del arte [17, 21]. Estos dos algoritmos únicamente diferencian en tres clases, por lo que el experimento llevado a cabo en este caso divide las imágenes en tres grupos: Normal, RDNP y RDPS. Los

resultados obtenidos en términos de error se muestran en la Tabla 2. Observamos cómo el sistema NGDR propuesto consigue los valores más bajos de error.

En cuanto a tiempo de ejecución, el algoritmo emplea una media de 6.46 segundos en extraer todos los parámetros basados en DColor-SIFT y GLOH. Una vez entrenado el modelo DL-RN, únicamente se emplean 1.12 segundos de media para clasificar cada nueva imagen.

4. Conclusiones

En este trabajo, se presenta un sistema para la identificación de los cinco niveles de gravedad de retinopatía diabética, utilizando características visuales y un modelo deep-learning con redes neuronales.

El objetivo principal de esta herramienta, es el reconocimiento de los cinco niveles de gravedad de RD, sin realizar etapas de pre o post procesado, ni de segmentación sobre la retinografía. En este estudio, se ha buscado la adaptabilidad y la precisión, con una implementación basada en características visuales (C-SIFT y GLOH) y una técnica de optimización basada un modelo DL-RN.

El sistema NGRD propuesto, ha sido evaluado usando el área bajo la curva ROC y probado en 250 retinografías (50 por categoría) que se obtuvieron del Hospital Puerta del Mar (Cádiz, España). El rendimiento global del algoritmo propuesto, se ha medido en términos de eficacia y tiempo obteniendo altos valores de calidad (SN de del 91.87% y SP del 93.80%) en un tiempo mínimo. A su vez, el error de clasificación conseguido es muy inferior al de otras técnicas del estado del arte.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el proyecto de la Junta de Andalucía (Consejería de Innovación, Ciencia y Empresas) P11-TIC-7727.

Referencias

- [1] Shaw J.E., Sicree R.A., Zimmet P.Z. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.* 2010; 87(1):4–14.
- [2] Washington R.E., Orchard T.J., Arena V.C., LaPorte R.E., Secrest A.M., Tull E.S. All-cause mortality in a population-based type 1 diabetes cohort in the U.S. Virgin Islands. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014; 103(3):504–509.
- [3] Faust O., Acharya U.R., Ng E. Y. K., Ng K-H., Suri J.S. Algorithms for the automated detection of diabetic retinopathy using digital fundus images: a review. *Journal of Medical Systems* 2012; 36(1): 145–157.
- [4] Mookiah M.R.K., Acharyaa U.R., Chua C.K., Lim C.M., Ng E.Y.K., Laude A. Computer-aided diagnosis of diabetic retinopathy: a review. *Computers in Biology and Medicine* 2013; 43(12): 2136–2155.
- [5] Bhaskaranand, M., Ramachandra C., Bhat S., Cuadros J., Nittala M. G., Satta, S. et al. Automated diabetic retinopathy screening and monitoring using retinal fundus image analysis. *Journal of diabetes science and technology* 2016; 10(2):254–261.
- [6] Li B., Li H.K. Automated analysis of diabetic retinopathy images. *Curr Diab Rep.* 2013 Aug; 13(4):453-9.
- [7] Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs-an extension of the modified Airlie House classification. ETDRS report number 10. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology* 1991; 98: 76-806.
- [8] Automated image detection of retinal pathology, Herbert F. Jelinek, Michael J. Cree, CRC press, 2010.
- [9] Kanagasingam Y., Bhuiyan A., Abramoff M.D., R. Smith R.T., Goldschmidt L., Wong T.Y. Progress on retinal image analysis for age related macular degeneration. *Progress in Retinal and Eye Research* 2014; 38: 20–42.
- [10] Datta N.S., Dutta H.S., Majumder K., Brightness-preserving fuzzy contrast enhancement scheme for the detection and classification of diabetic retinopathy disease. *J Med Imaging* 2016; 3(1): 1–10.
- [11] Prakash N.B., Selvathi D., Hemalakshmi G.R. Development of algorithm for dual stage classification to estimate severity level of diabetic retinopathy in retinal images using soft computing techniques, *International Journal on Electrical Engineering and Informatics* 2014; 6 (4): 717–739.
- [12] Akram M.U., Khalid S., Tariq A., Khan S.A., Azam F., Detection and classification of retinal lesions for grading of diabetic retinopathy. *Computers in Biology and Medicine* 2014 (45): 161-171.
- [13] Verma, Kanika; Deep, Prakash; Ramakrishnan, A. G. Detection and classification of diabetic retinopathy using retinal images. In proceeding of 2011 Annual IEEE India Conference (INDICON), 1–6, 2011.
- [14] Schmidhuber J. Deep learning in neural networks: An overview. *Neural Networks* 2015; 61: 85–117.
- [15] Abdel-Hakim A.E. and Farag A.A. CSIFT: A SIFT descriptor with color invariant characteristics. *IEEE Computer Society Conference on Computer Vision and Pattern Recognition* 2006: 1978–1983.
- [16] Mikolajczyk K. and Schmid C. A performance evaluation of local descriptors. *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence* 2005; 10 (27): 1615–1630.
- [17] Thomas S., Seltzer M.L., Church K. and Hermansky H. Deep neural network features and semi-supervised training for low resource speech recognition. In proceeding of IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing, Vancouver, BC, 2013, pp. 6704–6708.
- [18] Hinton G., Deng L., Yu D., Dahl G., Mohamed A.R., Jaitly N. et al. Deep Neural Networks for Acoustic Modeling in Speech Recognition: The Shared Views of Four Research Groups. *IEEE Signal Processing Magazine* 2012; 29 (6): 82–97.
- [19] Bertolini D., Oliveira L.S., Justino E. and Sabourin R. Texture-based descriptors for writer identification and verification. *Expert Systems with Applications* 2013; 40(6): 2069–2080 .
- [20] Lin J. Divergence measures based on the Shannon entropy. *IEEE Transactions on Information Theory* archive 1991;37 (1): 145–151.
- [21] Hanley J.A., McNeil B.J. The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (ROC) curve. *Radiology* 1982;143(1): 29–36.

Preliminary Evaluation of a Radiological Biomarker to Characterize the Longitudinal Evolution of Tuberculosis

M. Muñoz-Hernando¹, P. Macias¹, M. Abella^{1,2}, M. Desco^{1,2}, S. Sharpe³, J.J. Vaquero^{1,2}, A. Muñoz-Barrutia^{1,2}

¹ Dep. de Ingeniería Biomédica y Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, Leganés, Spain

² Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, Spain
{mmunoz, pmacias, mabella, mdesco, juanjo, amunoz}@hggm.es

³ Microbiology Service Division, Public Health England, Porton Down U.K.
sally.sharpe@phe.gov.uk

Abstract

Tuberculosis (TB) remains the world's second-deadliest disease, due to a single infectious agent. The population that has developed multidrug resistance is increasingly important boosting the interest to run assays of novel multi-antibiotic combinations. Drug assays of new chemotherapies for treating TB require following subjects to assess response at several time points. Radiological examination of the subjects is a promising technique for that task. In this context, the main objective of the present work is twofold: 1) To evaluate the performance of a tool, dedicated to the automatic segmentation of TB infected lungs in chest Computed Tomography (CT) scans; 2) To present a method to automatically compute an imaging biomarker capable to characterize the disease longitudinal evolution. The selected biomarker is based on the intensity differences between the healthy and sick lung parenchyma in chest CT scans. Our results demonstrated a good similarity between the automatically segmented lungs and those delineated using a semi-automatic tool that relays on manual corrections. Furthermore, regarding the automatic extraction of the imaging biomarker, results showed a good inter-method agreement and concordance with respect to those obtained using a visually defined set of thresholds.

1. Introduction

The infection caused by Mycobacterium tuberculosis (MTB), which mainly affects the lungs, remains the world's second-deadliest disease, after HIV/AIDS, due to a single agent; 9.6 million people fell ill and 1.5 million died during 2014. Moreover, an estimated 480,000 people developed multidrug resistant TB (MDR-TB) [1], which increases the urgent need to improve diagnosing and treatments efforts. However, the drug development pathway in TB is not completely integrated having important unanswered questions at every stage. It remains unclear to what extent preclinical methods capture the right pharmacodynamics of a drug or reproduce the conditions under which it should act. In this context, developing a single drug for TB is challenging, but identifying the best combination of drugs to obtain the most effective treatment regimes is even harder.

The project in which this work is framed pioneers a novel integrated methodology for preclinical trials, capable of facilitating the transition of the best combination of drugs

to clinical trials and maximizing their chances of success [2]. In this context, our contribution in this work pursues the advantage of being able to follow disease progression longitudinally using radiological imaging techniques exclusively. The classical TB diagnosis test, the sputum test, sets a detection limit under which disease evolution cannot be followed; consequently, infection relapses cannot be anticipated and treatments become longer and more severe. For this reason, having a fully automatic method able to extract a sensitive imaging biomarker capable of giving disease progression information (even under the sputum detection limit) is crucial to find the best possible tuberculosis treatment and hence, has motivated this work.

In this paper we present an initial attempt to address this purpose. For that, we present and evaluate a tool dedicated to the automatic segmentation of TB infected lungs in chest CT scans. Further, we define and automatically extract an imaging biomarker based on the intensity differences between healthy and diseased lung parenchyma from the previously computed lung masks. Finally, we give preliminary results on the ability of the imaging biomarker to characterize the disease longitudinal evolution.

2. Materials

2.1. CT Images

The study was composed by chest CT scans acquired from six separate subjects at 3, 8 and 16 weeks after exposure to the MTB bacteria at the Microbiology Service Division of Public Health at Porton Down U.K.

2.2. Automatic Lung Segmentation Tool

Our automatic lung segmentation tool was adapted from [3] and follows two main steps:

- 1. Lung Segmentation:** The tool automatically extracts the internal lung volume (parenchyma and airway lumen) from the chest CT scan using an algorithm based largely on previous work by Hu *et al.* [4].

2. Airway Extraction: The trachea is automatically detected using some prior information on its size and anatomical position. From the trachea position, a wave front propagates using a three-dimensional fast marching algorithm [5]. At each step, leakage and bifurcation checks are performed and appropriated actions are taken. Once segmented, the trachea and the main airways are deleted from the whole lung segmentation.

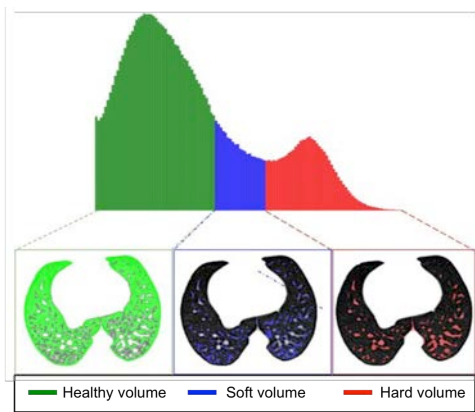


Figure 1. Manual extraction of the tuberculosis biomarker. Graphical representation of the manually defined thresholds to separate the lung histogram into three volumes: Healthy, soft diseased and hard diseased volume.

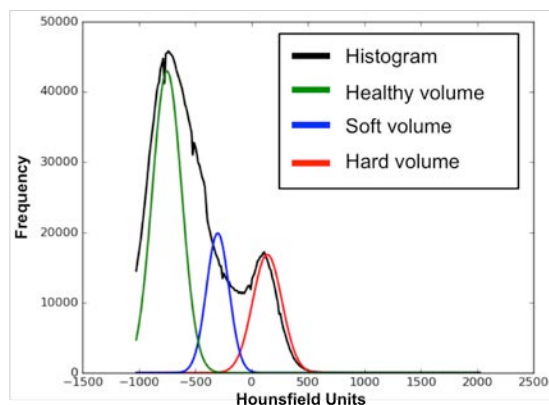


Figure 2. Automatic extraction of the tuberculosis biomarker. Graphical representation of the Gaussian mixture model that would result after applying the Expectation Maximization algorithm to the lung histogram; each Gaussian corresponds to one of the three different lung volumes (healthy, soft diseased and hard diseased volume).

3. Methods

3.1. Lung segmentation evaluation

The lung masks created with the automatic lung segmentation tool just described were compared with those obtained using the semi-automatic tool LUNGSIMI software [6] that were considered as gold standard. For that purpose, the Dice Similarity Coefficient (DSC) was computed to measure the overlap between the lung segmentations obtained using the automatic tool and those of reference. DSC is defined as follows:

$$DSC = \frac{2|A \cap B|}{|A| + |B|}$$

where A and B correspond to the reference and the automatic lung segmentation, respectively.

3.2. Imaging biomarker

3.2.1 Imaging biomarker definition

As previously indicated, the tuberculosis biomarker we extracted is based on the intensity differences observed between the healthy and sick lung parenchyma. Chen *et al.* in [7] reported that human chest CT images of tuberculosis patients have a prominent abnormal density in the histogram window ranging from -500 to +200 HU that appeared to be disease associated and capture most of the apparent disease from the CT scans. Consequently, the information of the histogram was used to define healthy and disease-associated lung volumes, being the latter one further sub-divided in hard and soft volumes (see Figure 1). In particular, they propose:

- **Healthy volume (-1024 to -500 HU):** This volume corresponds to the region of the lung occupied by aerated (without visible lesions) parenchyma.
- **Soft diseased volume (-500 to -100 HU voxels):** This volume corresponds to lower density abnormal tissue, mainly correlated with small-to-medium nodular lesions, ground glass opacities and diffuse pulmonary infections. Soft diseased lung volume may correspond to both healing lesions and to new forming lesions and in [7], its change was not predictive of outcome. Here we use it to calculate the overall disease-associated volume.
- **Hard diseased volume (-100 to 200 HU):** This volume corresponds to the higher-density abnormalities (large nodular lesions, cavities, consolidations, fibrosis and bronchial thickening). It is likely that abnormal densities become less dense as they return to normal lung tissue (i.e., healing or treatment response). Hence, the volume of the densest lesions is more sensitive to improvement than the total volume of abnormal lung, which in [7], was predictive of treatment response. Therefore, we use the hard diseased volume normalized by the total lung volume (the “relative hard volume”) as an imaging biomarker to characterize disease evolution.

In our case, the animals were breathing freely during acquisition, so the optimal thresholds are different from those used in [7]. Apart from that, there exist variations in the respiration due to the various animal conditions, for these reasons, the manual thresholds were decided in a per animal basis. Note also that as the upper threshold for the hard diseased lung volume, we take the maximum CT intensity value (1024 HU) with the purpose of not missing the densest lesions.

3.2.2 Imaging biomarker computation

The thresholds set in [7] to extract the different lung volumes were visually defined by an expert. As one of our aims is to provide a completely automatic pipeline, we propose to use the Estimation-Maximization (EM)

algorithm [8] to compute them. The EM algorithm is an iterative method for finding maximum a posteriori estimates of the thresholds in a statistical model (in our case, the Gaussian mixture with three components as depicted in Figure 2). The EM iteration alternates between performing an expectation (E) step, where the likelihood of random initial threshold given the existing data is calculated; and a maximization (M) step, to search for new thresholds that would maximize this likelihood. These threshold-estimates are then used as initial thresholds in the next E step, and the process is iterated until convergence is achieved. The output would be two thresholds that separate healthy and soft lung diseased volumes, and soft and hard lung diseased volumes, respectively.

3.2.3 Imaging biomarker evaluation

We performed a qualitative evaluation of the *hard relative lung volume* (e.g., the proposed imaging biomarker) extracted using the automatically defined thresholds with respect to those thresholds set visually by an expert.

To perform the qualitative evaluation, we create waterfall plots as a graphical representation of disease evolution. In the plot, total hard relative lung volume at baseline and the corresponding \log_2 change at 8 and 16 weeks after exposure are shown. Then, we constructed Bland-Altman plots to calculate the agreement and the existence of bias between both methods. Finally, we used the Squared Pearson's correlation coefficient (R^2) to evaluate the inter-methods concordance.

4. Results

4.1. Lung segmentation evaluation

As it can be seen in Table 1, the DSC values obtained when comparing the lung masks created by our automatic lung segmentation tool and the LUNGSIMI software are all over 0.9, with the exception of the 8th week CT acquisition of subject R8 (DSC=0.85). Visual inspection of this scan showed that subject lungs were heavily damaged, which implies a greater challenge for the automatic algorithm to carry out the lung segmentation step.

4.2. Imaging biomarker evaluation

Figure 3 depicts the volumes extracted as healthy and soft plus hard diseased lung volumes with both the reference set and the automatically computed thresholds. The top row shows an axial slice of the original CT scans, in which the lungs have been masked using the output from our automatic lung segmentation tool. The evolution of a TB lesion is shown inside the orange circles, while the arrow points a lesion that appeared 16 weeks after exposure.

When compared to the original images, it can be observed that higher density abnormal tissue (TB lesions) is segmented as hard diseased lung volume (shown in red), lower density abnormal tissue is segmented as soft diseased lung volume (blue) and apparently normal lung

parenchyma as healthy lung volume (green). Thus, the obtained healthy and sick lung volumes could characterize well disease state.

Subject	Lung masks DSC		
	3 Weeks	8 Weeks	16 Weeks
R8	0.97	0.85	0.93
R12	0.98	0.98	0.99
R40	0.95	0.98	0.98
R48	0.91	/	/
R61	0.96	0.94	0.96
R62	0.98	0.98	0.98

Table 1. Dice Similarity Coefficient (DSC) between the lung masks obtained with the LUNGSIMI Software and the automatic segmentation tool. Subject R48 deceased before the 8th week CT scan acquisition.

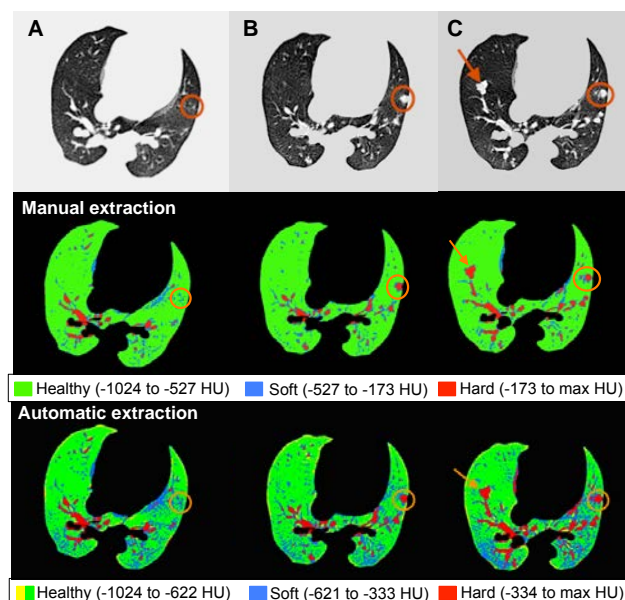


Figure 3. Graphical representation of the TB biomarker extracted results. Axial view of the labeled lung CT images; original (top) and after performing the manual (middle) and the automatic (bottom) extractions, at 3 (A), 8 (B) and 16 (C) weeks after exposure to the MTB bacteria. The estimated healthy lung volume is shown in green, soft diseased volume in blue and hard diseased volume in red. Orange circles show the evolution of a tubercular lesion and the orange arrow points to a lesion that appeared 16 weeks after exposure.

Moreover, the visually set and automatically defined thresholds show similar results, indicating that the EM algorithm is able to find proper thresholds.

Nevertheless, further confirmation on their agreement is necessary. Waterfall plots of change in hard relative lung volume (see Figure 4) show that the change follows the same pattern for both methods. This fact reinforces the assumption of a proper automation.

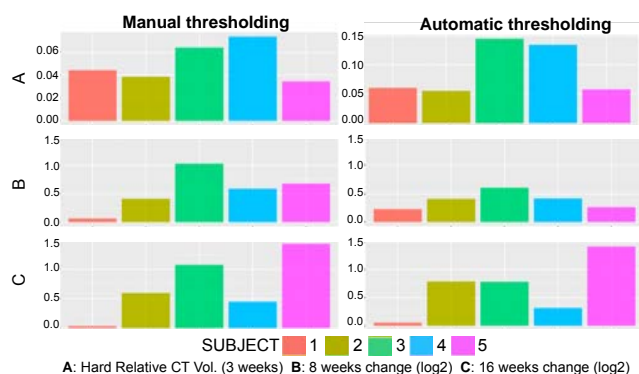


Figure 4. Relative diseased lung volume waterfall plots for manual (left) and automatic (right) thresholding. (a) Baseline relative hard volume at 3 weeks; (b, c) Volume log₂ fold change computed with respect to the baseline, using the volumes measured at 8 and 16 weeks, respectively.

Furthermore, the Bland-Altman plot computed to evaluate the inter-method agreement to estimate the hard relative lung volume is shown in Figure 5. Observe the increasing bias with increasing mean. This result indicates that the volumes extracted with the automatically set thresholds are slightly bigger than those extracted with the visually set ones (see also the baseline waterfall plot); we are investigating the origin of this bias. In addition, it can be seen that 95% of the data lies within the limits of agreement, which indicates that there are not many data outliers.

Despite the fact that inter-method agreement results are quite good, our sample size is too small to the extract categorical conclusions. Interestingly, the squared Pearson correlation coefficient (R^2) was computed yielding a result of 0.952, which indicates high inter-method concordance.

5. Conclusions

The proposed automatic tool is able to segment the lungs infected by tuberculosis and extract the proposed lung imaging biomarker, the *relative hard diseased lung volume*. Our preliminary evaluation shows promising results on the application of the presented imaging biomarker to follow disease progression/remission. An extensive quantitative evaluation with a larger number of subjects and carefully created radiological annotations are needed to set the real sensitivity of the technique.

Acknowledgements

The research leading to these results was supported by funding from the Innovative Medicines Initiative Joint Undertaking under grant agreement n° 115337, the resources of which comprise financial contributions from the European Union's Seventh Framework Program (FP7/2007-2013) and EFPIA companies ('in kind contribution'). This work was also partially funded by the

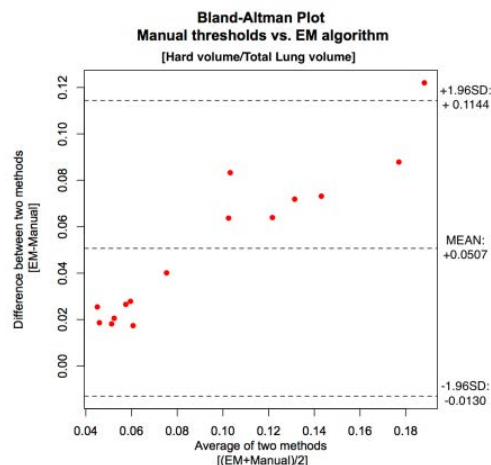


Figure 5. Bland-Altman plot providing graphical information on the agreement between the manual and the automatic thresholding approaches to extract the relative hard diseased lung volume.

projects TEC2013-48552-C2-1-R, TEC2014-56600-R, RTC-2015-3772-1 and TEC2015-73064-EXP from Ministerio de Economía y Competitividad, and INFIERI FP7-PEOPLE-2012-ITN Grant Agreement number 317446.

References

- [1] World Health Organization (WHO) official webpage. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/> (Accessed: 11-Jul-2016).
- [2] PreDiCT-TB project webpage. <http://www.predict-tb.eu/> (Accessed 24-Jan-2016).
- [3] Ceresa M, Bastarrika G, de Torres JP, Montuenga LM, Zulueta JJ, Ortiz-de-Solorzano C, Muñoz-Barrutia A. Robust, standardized quantification of pulmonary emphysema in low dose CT exams. *Acad Radiol*, vol. 18, n. 11, 2011, pp. 1382-90.
- [4] Hu S, Hoffman E, Reinhardt J. Automatic lung segmentation for accurate quantification of volumetric x-ray CT images. *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 20, 2001, pp. 490-498.
- [5] Schlathoelter T, Lorenz C, Carlsen IC, et al. Simultaneous segmentation and tree reconstruction of the airways for virtual bronchoscopy. *Proc SPIE*, vol. 4684, 2002, pp. 103-113.
- [6] Olmo A, Abella M, García-Vazquez V, Pascau J, Desco M, Vaquero JJ. Herramienta de segmentación de pulmón y de granulomas tuberculosos en imágenes de TAC. Libro de Actas del XXXII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB'14), 2014.
- [7] Chen RY, Dodd LE, Lee M, Paripati P, Hammoud DA, Mountz JM, Jeon D, Zia N, Zahiri H, Coleman MT et al. PET/CT imaging correlates with treatment outcome in patients with multidrug-resistant tuberculosis. *Science translational medicine*, vol.6, no. 265, 2014, pp.265ra166.
- [8] Do CB, Batzoglu S. What is the expectation maximization algorithm? *Nature biotechnology*, vol.26, no. 8, 2008, pp. 897-899.

Diagnóstico citopatológico de cáncer de piel mediante análisis de imágenes hiperespectrales infrarrojas

F. Peñaranda, V. Naranjo

Instituto de Investigación e Innovación en Bioingeniería (I3B), Universitat Politècnica de València, Valencia, España
 {frapeago,vnaranjo}@upv.es

Resumen

Los micro-espectroscopios infrarrojos por Transformada de Fourier permiten captar imágenes hiperespectrales de regiones relativamente extensas de muestras citológicas que contienen varios centenares de células. Los espectros asociados a los píxeles de estas imágenes contienen gran cantidad de información sobre la composición química de una pequeña región de material biológico. Mediante métodos de aprendizaje automático o reconocimiento de patrones, estos espectros pueden utilizarse para caracterizar e identificar, con una resolución espacial del orden de micras, diferentes clases de material biológico sano o patológico. Gracias a ello, esta tecnología emergente posee un gran potencial para desarrollar sistemas objetivos de detección y ayuda al diagnóstico de distintos tipos de cáncer, como el de piel. En este estudio se presenta una metodología completa para clasificar los espectros asociados a píxeles de imágenes hiperespectrales que contienen cuatro tipos de líneas celulares de piel, dos normales y dos asociadas a melanoma. Los resultados iniciales obtenidos para diferentes combinaciones de pre-procesado de espectros y algoritmos de clasificación son bastante prometedores.

1. Introducción

Actualmente, el diagnóstico final de la mayoría de tipos de cáncer lo realiza un experto patólogo mediante observación cualitativa al microscopio. Esta última decisión depende totalmente del entrenamiento y las capacidades del facultativo, dándose casos en los que el diagnóstico puede diferir entre distintos médicos. Esto se debe a que en las áreas de anatomía patológica no ha habido grandes avances tecnológicos como en otras áreas médicas tales como la radiológica. Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar nuevas técnicas de ayuda a la decisión que ofrezcan herramientas más objetivas para dar un diagnóstico fiable.

La micro-espectroscopia infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) es una tecnología emergente que ha demostrado un gran potencial para la mejora del diagnóstico objetivo de distintos tipos de cáncer en el ámbito de la anatomía patológica [1]. Esta tecnología aprovecha las propiedades del infrarrojo medio (2.5-25 μm) para excitar los modos de vibración de los enlaces químicos que componen las biomoléculas de la materia orgánica. Cada enlace químico tiene una frecuencia de excitación característica, por lo que sólo absorben energía luminica a un número de onda (inverso de la longitud de onda) determinado. Así, los dispositivos FTIR generan espectros con cientos e incluso miles de valores de absorbancia a diferentes números de onda. Hasta hace menos de diez años, los dispositivos FTIR sólo eran

capaces de realizar medidas puntuales de la muestra. Los nuevos dispositivos de micro-espectroscopia FTIR generan imágenes que permiten analizar mayores superficies de la muestra en un tiempo razonable gracias al desarrollo de nuevos sensores infrarrojos de tipo matricial acoplados a ópticas microscópicas [2].

Las imágenes hiperespectrales FTIR se pueden representar como un cubo de datos con dos coordenadas espaciales (x,y) que determinan las posiciones de los píxeles (Figura 1). Cada pixel tiene asociado un espectro de absorbancia, cuyas componentes vienen determinadas por la coordenada espectral v , que contiene información de la estructura bioquímica de una zona microscópica de la muestra. Estos espectros pueden analizarse mediante técnicas de análisis multivariante para caracterizar diversos materiales biológicos de una manera objetiva [3]. Una de las aplicaciones específicas es la clasificación de cultivos celulares de distintas patologías. En concreto, los espectros FTIR pueden ayudar a discriminar distintos tipos de células de piel entre las que se encuentren células cancerígenas [4,5]. La idea es utilizar este potencial en el futuro para localizar células tumorales en los tejidos sospechosos.

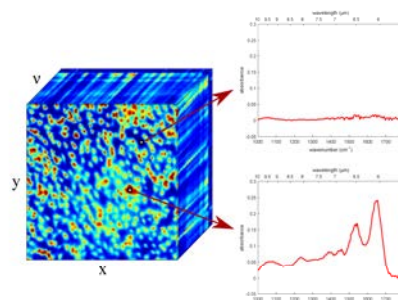


Figura 1. Ejemplo de una imagen hiperespectral FTIR. A la izquierda se representa la imagen como un cubo de datos. A la derecha se presentan los espectros de dos píxeles seleccionados.

En este estudio se describe una metodología completa para clasificar los espectros asociados a píxeles de imágenes hiperespectrales FTIR que contienen cuatro tipos de líneas celulares de piel, dos normales y dos tumorales. A su vez, se presentaran los resultados obtenidos con dicha metodología y las conclusiones extraídas de los mismos.

2. Material y métodos

2.1. Muestras disponibles

Para este estudio se disponía de cuatro líneas celulares cutáneas, dos de ellas no tumorales (queratinocitos **HaCaT**

y fibroblastos **NIH-3T3**) y dos líneas tumorales asociadas a melanoma (**A-375** y **SK-MEL-38**). Para cada tipo celular se cultivó en laboratorio una muestra que se depositó de forma aislada sobre un sustrato de CaF_2 (material propicio para mediciones en el infrarrojo). Tras ello, estas muestras citológicas fueron tratadas químicamente para eliminar los compuestos químicos del ambiente celular y fijadas con glutaraldehído para su conservación.

De cada una de las muestras citológicas se obtuvo una imagen hiperespectral FTIR mediante un micro-espectroscopio con un detector de 128×128 píxeles. Cada píxel de las imágenes tiene un tamaño equivalente a $5.5 \times 5.5 \mu m^2$ en la muestra, que es una buena solución de compromiso entre la separación de diferentes células y la cobertura de una región espacial suficiente para la obtención de una firma espectral media característica de cada célula. Los espectros fueron adquiridos en modo de transmisión en el intervalo de números de ondas de $1000-3800 \text{ cm}^{-1}$ con una resolución espacial de 4 cm^{-1} . Para cada imagen se tomaron un total de 128 adquisiciones de la misma zona y se realizó la media de las mismas para aumentar la relación señal-ruido. Además, también para cada muestra se tomó una imagen de una zona del sustrato sin células para utilizarla como referencia para el cálculo de los valores de absorbancia [3]. Por tanto, el análisis se realizará sobre 4 imágenes hiperespectrales de 4 líneas celulares diferentes, cada una de las cuales contiene información espectral de centenares de células.

2.2. Método de clasificación

En la Figura 2 se presenta el diagrama general con las principales etapas que constituyen el método empleado para la clasificación de los espectros extraídos de las imágenes hiperespectrales FTIR.

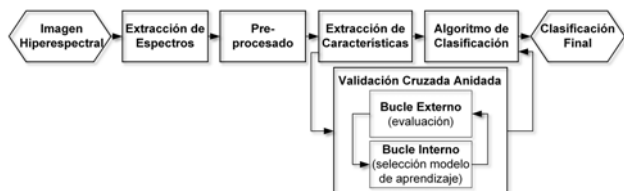


Figura 2. Diagrama de bloques del proceso de clasificación

En el área de conocimiento del aprendizaje automático (o *machine learning* en inglés), existe el denominado *No Free Lunch Theorem* cuyo enunciado viene a decir que no existe ningún método de aprendizaje o clasificación que prevalezca sobre otros, sino que cada conjunto de datos específico puede requerir una solución diferente [6]. Por tanto, es necesario evaluar la influencia que tienen en la clasificación final las diferentes alternativas barajadas en cada etapa del método. A continuación se detallan los objetivos y las distintas opciones que se han tenido en cuenta en cada etapa del proceso de clasificación.

1) *Extracción de espectros*: el objetivo principal de esta etapa es escoger únicamente los píxeles asociados con material biológico y no con sustrato, creando una máscara binaria que indica la posición de los píxeles a retener. En la Figura 3 se presenta un ejemplo ilustrativo de la obtención de esta máscara. La imagen izquierda de la Figura 3 fue captada con un microscopio óptico para usarla

como referencia del proceso y sólo cubre una región de la muestra. La imagen central de la Figura 3 es una imagen en escala de grises extraída del cubo de datos FTIR. Esta imagen representativa se obtuvo tras aplicar a cada espectro un filtro de suavizado de Savitzky-Golay (SG), una selección de banda a la región $1000-1800 \text{ cm}^{-1}$ (asociada a las frecuencias de excitación de los enlaces bioquímicos más relevantes) y una corrección de la línea base (mediante sustracción de la envolvente convexa de cada espectro). Tras ello, se calculó la desviación estándar de cada espectro de absorbancia para obtener un valor único para cada píxel. El rango de valores obtenidos para cada imagen se transformó a escala de grises. El rango de intensidades de estas imágenes se invirtió, por lo que los píxeles que contienen material orgánico tienen una mayor absorbancia (y, por tanto, mayor desviación estándar) que los píxeles que sólo tienen sustrato y aparecen con un nivel de gris más oscuro. Finalmente, se aplicó el algoritmo de Otsu a estas imágenes en escala de grises para calcular el umbral de conversión a imagen binaria. En la imagen derecha de la Figura 3 se puede ver la máscara binaria resultante, donde los píxeles negros indican las posiciones de los espectros que se extraerán para continuar con el proceso de clasificación. En la Tabla 1 se pueden ver el número total de espectros extraídos para cada línea celular.

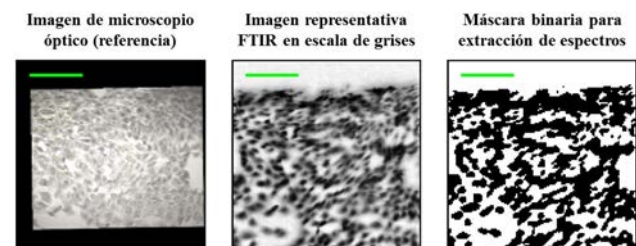


Figura 3. Ejemplo de máscara para extracción de espectros. Las líneas de escala verdes representan $200 \mu m$

Tabla 1. Número de espectros extraídos de cada línea celular

A-375	HaCaT	NIH-3T3	SK-MEL-28
7818	2854	7758	7872

2) *Pre-procesado*: esta es la etapa crítica del proceso de clasificación. Debido a la poca madurez de la micro-espectroscopia infrarroja aplicada al estudio de células, todavía no existe un amplio conocimiento de los fenómenos físicos que influyen en la interacción de la luz con la materia orgánica a estas escalas. Por lo tanto, no hay un consenso en los métodos más idóneos para compensar en los espectros la información física como el espesor, la densidad o la forma de las células, que enmascaran la información química relevante para la clasificación. Actualmente, la única manera de estudiar si un método de pre-procesado es mejor para un problema concreto es comprobar su influencia en la clasificación final. Como guía, se han considerado los métodos propuestos en referencias relevantes en el campo de la espectroscopia infrarroja [3,7]. En concreto, se han explorado tres alternativas diferentes que se aplican individualmente para cada espectro, las cuales se han definido con abreviaturas para su rápida identificación:

- **rubber:** corrección de línea base (mediante sustracción de la envolvente convexa de cada espectro) seguido de normalización al pico de la Amida I (~1650 cm⁻¹).
- **diffsg1:** cálculo de primera derivada utilizando filtro de SG y normalización con norma euclídea.
- **rmiesc:** algoritmo de corrección de la dispersión resonante de Mie.

En la Figura 4 se pueden observar las diferencias entre los espectros medios de cada línea celular calculados tras aplicar las opciones de pre-procesado descritas.

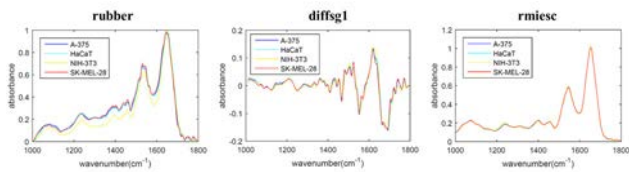


Figura 4. Espectros medios de cada línea celular tras aplicar las tres alternativas de pre-procesado estudiadas.

3) *Extracción de características:* para disminuir el coste computacional y mejorar la clasificación final se ha reducido dimensionalidad de los espectros, que contienen en torno a 400 valores de absorbancia. Para ello, se ha utilizado el Análisis de Componentes Principales (siglas PCA en inglés) que genera nuevas variables en orden de separación de los datos de una forma no supervisada [6,8]. El número de componentes principales PC a retener es uno de los parámetros que debe optimizarse. En concreto, se estudiaron valores de PC en el rango de 10 a 100.

4) *Algoritmo de clasificación:* en este paso se emplean algunos de los métodos más populares en el campo del aprendizaje estadístico para discriminar los espectros en los 4 tipos celulares. De manera genérica, estos modelos multiclase se crean a partir de muestras de un conjunto de espectros de *entrenamiento* y su capacidad de predicción se evalúa sobre otro grupo independiente de espectros denominado conjunto de *test* [8]. Los algoritmos utilizados, en orden de complejidad, son los siguientes: *k* vecinos más próximos (siglas **KNN** en inglés), donde el número *k* de vecinos que en este caso tomó valores entre 1 y 9 es una variable a optimizar; *clasificador bayesiano ingenuo* (siglas **NB** en inglés); *análisis discriminante lineal* (siglas **LDA** en inglés); *máquinas de vectores soporte* (siglas **SVM** en inglés), con un núcleo o *kernel* lineal, donde el parámetro de coste *C* fue estudiado en el intervalo [2⁻⁵, 2⁹]. Otro factor importante en la clasificación es la métrica que se utiliza para su evaluación. En este caso se ha usado la denominada *exactitud equilibrada* (siglas **BA** en inglés) que intenta compensar el desequilibrio existente entre los espectros extraídos de las cuatro clases (Tabla 1) y así evitar favorecer a las clases mayoritarias. **BA** es la media de las exactitudes de cada clase:

$$BA(\%) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{c_{ii}}{\sum_{j=1}^N c_{ij}} \cdot 100$$

Donde *N* es el número de clases y *c_{ij}* el número de espectros de la clase *i* clasificados como clase *j*.

5) *Validación cruzada anidada:* como sólo se dispone de una imagen por línea celular, es muy importante

realizar una separación correcta de los espectros para crear el modelo de aprendizaje sin *sobreajustarlo* a los datos de entrenamiento y evaluar su capacidad de generalización sobre espectros independientes [6,8]. Por tanto, en el proceso de clasificación se ha añadido un módulo de *validación cruzada anidada* que incluye dos tipos de bucles: uno *externo* y otro *interno*. En el *bucle externo* cada imagen se divide espacialmente en 5 tiras verticales con el mismo número de espectros extraídos para mantener la proporción entre clases (Figura 5). Para cada iteración del *bucle externo*, los espectros pertenecientes a una de las tiras son considerados como el conjunto de *test* y no entran al *bucle interno*. En el *bucle interno*, los espectros retenidos se dividen nuevamente en 5 tiras. En cada iteración del *bucle interno*, los espectros de una de estas últimas tiras son considerados como el conjunto de *validación* sobre el que se evalúa el modelo entrenado con las cuatro tiras restantes. El objetivo principal del *bucle interno* es seleccionar el modelo de aprendizaje con una mayor **BA** asociada, realizando una búsqueda exhaustiva de los hiperparámetros (número de PC a retener, *k* en KNN y *C* en SVM). Fijados los parámetros óptimos, el modelo se entrena con todos los espectros de las cuatro tiras originales del *bucle externo* y su capacidad de predicción se evalúa sobre los espectros del conjunto de *test*. Así, se obtienen cinco valores finales de **BA**, uno para cada iteración del *bucle externo*.

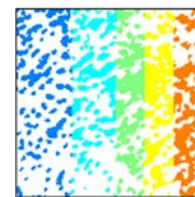


Figura 5. División espacial de una imagen en 5 tiras verticales que contienen el mismo número de espectros extraídos.

3. Resultados

Como se ha descrito en el apartado anterior, a lo largo de este estudio se ha tenido especial cuidado en evaluar correctamente la capacidad de generalización de los modelos de clasificación. Para ello, el proceso de validación cruzada anidada se ha aplicado para cada combinación de pre-procesado de espectros y algoritmo de clasificación. De cada una de estas combinaciones se obtuvieron 5 valores de *exactitud equilibrada* (**BA**) para los conjuntos de *test* de las particiones de los espectros del *bucle externo*. Los resultados de estos 5 valores para cada combinación de pre-procesado y algoritmo de clasificación se resumen estadísticamente en términos de media (μ) y desviación típica (σ) en la Tabla 2.

Tabla 2. Valores de exactitud equilibrada ($\mu \pm \sigma$) para las combinaciones de pre-procesado (columnas) y algoritmos de clasificación (filas) estudiadas

	rubber	diffsg1	rmiesc
KNN	78.6 ± 5.9	84.1 ± 4.4	86.3 ± 5.1
NB	78.7 ± 2.9	81.6 ± 4.9	76.8 ± 5.0
LDA	93.4 ± 3.9	93.6 ± 3.7	90.3 ± 5.8
SVM	93.8 ± 3.6	93.8 ± 3.8	92.4 ± 4.5

Como se puede observar en la tabla anterior, la exactitud equilibrada tiene una media por encima del 90% y una desviación típica alrededor del 4% para todos los tipos de pre-procesado si se utilizan los clasificadores LDA o SVM. Estos valores demuestran la alta capacidad discriminativa de los espectros FTIR, incluso independientemente del tipo de pre-procesado empleado.

La combinación más optimista (mayor $\mu - \sigma$) es la que usa el pre-procesado *rubber* con el clasificador *SVM*, la cual se ha marcado en negrita en la Tabla 2. Esta combinación se ha seleccionado para ilustrar de forma cualitativa los valores finales de la predicción de los espectros asociados a cada píxel extraído, cuando estos píxeles forman parte del conjunto de *test* en el *bucle externo* de la validación cruzada anidada. Con ello, se pretende obtener mayor información de las zonas donde falla la clasificación incluso en el escenario más favorable. En la Figura 6 se representan en pseudocolor los resultados cualitativos de dicha clasificación para cada imagen asociada a cada línea celular, donde se ha utilizado la codificación de colores que se especifica en la Figura 7. Es conveniente recordar que los píxeles asociados a sustrato y que se descartan para la clasificación se representan en blanco.

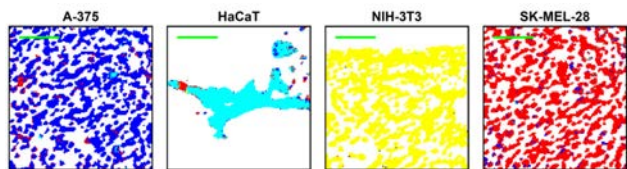


Figura 6. Resultados cualitativos para la combinación *rubber+SVM*. Las líneas de escala verdes representan 200 μm



Figura 7. Código de colores de los valores de predicción de los píxeles en los resultados cualitativos de la Figura 6.

En estas imágenes en pseudocolor se puede ver que la predicción se realiza de forma bastante satisfactoria en las cuatro imágenes, sin que haya especiales problemas para algún tipo celular. Además, se observa que los píxeles clasificados erróneamente se acumulan principalmente en regiones aisladas o en los bordes de agrupaciones celulares. Este comportamiento puede deberse a que la separación del material biológico del sustrato no se ha realizado de manera óptica (entrando píxeles asociados a sustrato a la clasificación) o a una corrección deficiente en la etapa de pre-procesado de los efectos de dispersión de tipo Mie, que son más severos en los bordes de las células.

4. Conclusiones

Los micro-espectroscopios FTIR, a diferencia de los espectroscopios tradicionales de medición puntual, pueden captar imágenes hiperespectrales FTIR de regiones relativamente extensas de la muestra que contienen varios centenares de células, aportando una mayor significación estadística a los resultados obtenidos. Gracias a ello, esta tecnología emergente posee un gran potencial para desarrollar sistemas objetivos de ayuda al diagnóstico de distintos tipos de cáncer, entre ellos el de piel.

Se ha descrito una metodología completa desde la extracción de los espectros de las imágenes hiperespectrales FTIR hasta la clasificación final. En esta metodología se han tenido en cuenta tanto conceptos específicos para el pre-procesado espectral como métodos más generales utilizados en el campo del aprendizaje estadístico o automático.

La capacidad discriminativa de los espectros adquiridos de diferentes líneas celulares de piel (dos de ellas asociadas a melanoma) mediante micro-espectroscopia infrarroja FTIR ha sido evaluada satisfactoriamente. Se han identificado las zonas en las que la predicción no se realiza correctamente, la cual puede ser causada porque el método de separación del sustrato de las regiones de interés para la clasificación no es óptima y/o porque no se han corregido los efectos de dispersión de la luz en el borde de las células.

Como líneas futuras de trabajo, se pretende analizar un mayor número de imágenes hiperespectrales de las mismas líneas celulares estudiadas aplicando la metodología de clasificación descrita. Con ello, se quiere obtener unos resultados más sólidos que corroboren estas buenas expectativas iniciales y que revelen posibles problemas de sobreajuste de los modelos de aprendizaje. A su vez, se implementarán modelos más complejos de corrección de los efectos de dispersión de la luz que pueden actuar como confusores en la clasificación de los espectros.

Agradecimientos

Este estudio ha sido subvencionado por el *Séptimo Programa Marco (FP7)* de Investigación de la Unión Europea, dentro del Proyecto MINERVA (317803; www.minerva-project.eu).

Referencias

- [1] Kendall C, et al. Vibrational spectroscopy: a clinical tool for cancer diagnostics. *Analyst*, 2009, vol. 134, no 6, p. 1029-1045.
- [2] Bhargava R. Infrared spectroscopic imaging: the next generation. *Applied spectroscopy*, 2012, vol. 66, no 10, p. 1091-1120.
- [3] Baker MJ., et al. Using Fourier transform IR spectroscopy to analyze biological materials. *Nature protocols*, 2014, vol. 9, no 8, p. 1771-1791.
- [4] Martin FL., et al. Distinguishing cell types or populations based on the computational analysis of their infrared spectra. *Nature protocols*, 2010, vol. 5, no 11, p. 1748-1760.
- [5] Clemens G, et al. Vibrational spectroscopic methods for cytology and cellular research. *Analyst*, 2014, vol. 139, no 18, p. 4411-4444.
- [6] Duda R, et al. *Pattern classification*. John Wiley & Sons, 2012.
- [7] Lasch P. Spectral pre-processing for biomedical vibrational spectroscopy and microspectroscopic imaging. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 2012, vol. 117, p. 100-114.
- [8] Friedman J, et al. *The elements of statistical learning*. Springer, Berlin: Springer series in statistics, 2001.

Informática Biomédica / Telemedicina

Miércoles 23 de Noviembre

SeniorFit: Una aplicación móvil para el seguimiento de la adherencia a estilos de vida saludable para gente mayor

F. Guede Fernández, V. Ferrer Mileo, M. Fernández Chimeno, J. Ramos Castro y M.A. García González

¹ Grupo de Instrumentación Electrónica y Biomédica, Departament d'Enginyeria Electrònica, Universitat Politècnica de Catalunya (UPC), Barcelona, España e-mail: miquel.angel.garcia@upc.edu

Resumen

El envejecimiento progresivo de la población en los países desarrollados exige la promoción de estilos de vida saludables para fomentar el envejecimiento activo. En este trabajo se presenta una aplicación denominada SeniorFit que pretende facilitar la autoevaluación de la adherencia al estilo de vida mediante una herramienta sencilla, cómoda y fiable. La aplicación está desarrollada para móviles y permite medir de forma no intrusiva la actividad física, el pulso cardíaco y evaluar el estado de ánimo utilizando únicamente el propio móvil. Esta aplicación ha sido utilizada por un grupo de gente mayor durante 3 semanas y en condiciones libres. Los usuarios han manifestado un alto grado de satisfacción y la facilidad de su uso.

1. Motivación

El envejecimiento progresivo de la población en los países desarrollados exige la promoción de estilos de vida saludables para que se produzca con un cierto nivel de bienestar. Además, desde la Organización Mundial de la Salud (OMS) advierten que los factores de riesgo de la mayoría de las enfermedades y muertes en Europa están relacionados con estilos de vida poco saludables [1]. Los estilos de vida activos basados en comportamientos saludables tienen como pilares fundamentales la dieta, la actividad física y la interacción social. Por ejemplo, la práctica regular de ejercicio mejora, entre otros aspectos, el sistema cardiovascular y reduce la depresión, ansiedad y estrés [2].

Actualmente, para la evaluación de un estilo de vida generalmente se requiere de un profesional debido a la falta de herramientas sencillas y fiables para su autoevaluación. En este trabajo se presenta una aplicación denominada *SeniorFit* que pretende facilitar la autoevaluación del estilo de vida mediante una herramienta sencilla, cómoda y fiable. La aplicación está desarrollada para móviles y permite medir de forma no intrusiva la actividad física y el pulso cardíaco, utilizando únicamente el propio móvil. Además, consta de una red social para facilitar la interacción social y un sistema de logros para promocionar la adhesión de los usuarios a un estilo de vida activo y saludable.

Esta aplicación ha sido utilizada por gente mayor en su día a día de forma continua y en condiciones libres. Esta aplicación será utilizada para medir variables fisiológicas, psicológicas y conductuales relacionadas con su estilo de vida.

2. Descripción de la aplicación

Como se puede observar en la Figura 1, la aplicación diseñada consta de cuatro partes, cada una enfocada a un ámbito de la salud: estado de ánimo, actividad física, ritmo cardíaco e interacción social. Esta división favorece la navegabilidad durante el uso de la aplicación. En las siguientes subsecciones se explican en detalle cada una estas funcionalidades.

2.1. Cuestionarios psicológicos

La aplicación utiliza una serie de cuestionarios psicológicos que el propio usuario ha de responder para evaluar distintos indicadores relacionados con el estado de ánimo. Se han implementado tres tipos de cuestionarios que abarcan distintos ámbitos de la psicología y que se responden con una periodicidad determinada. Por un lado, para la evaluación del estado de ánimo la aplicación implementa una versión reducida a 6 ítems del cuestionario POMS [3] que se debe responder diariamente. Además, la aplicación contiene un cuestionario sobre la percepción subjetiva de la salud basado en el SF-12 [4] que consta de 12 preguntas y el cuestionario SCOFF sobre hábitos alimentarios de 5 preguntas, ambos cuestionarios se responden mensualmente [5].

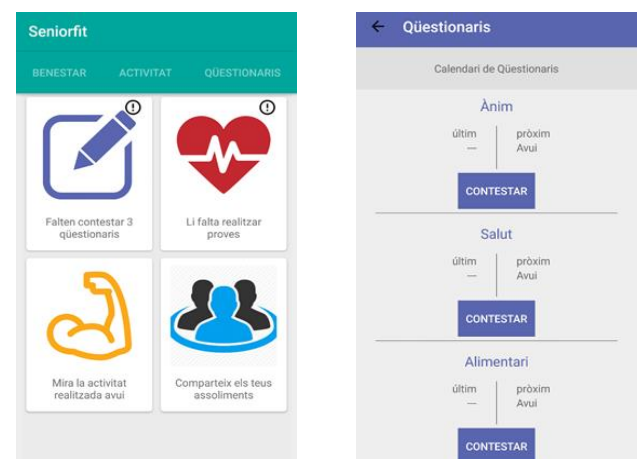


Figura 1. Pantallas de la aplicación: principal y cuestionarios

2.2. Ritmo cardíaco

En la parte dedicada al ritmo cardíaco, la aplicación permite realizar la medida del pulso cardíaco y consultar un histórico de las medidas realizadas. Además, antes de

empezar a medir el ritmo cardíaco, se le pide al usuario que indique su estado de ánimo en el rango de serio a alegre. Al finalizar la medida, a partir de los datos registrados se calcula, se almacena y tal como se muestra en la Figura 2, se presenta al usuario el ritmo medio y un índice de bienestar asociado a esta medida que se explicará más adelante. Finalmente, la aplicación permite visualizar estos datos promediados por días, meses y años y ver la evolución a lo largo del tiempo. Además, mediante notificaciones la aplicación recuerda al usuario que debe realizar dos medidas de pulso cardíaco diariamente.

2.3. Actividad física

La aplicación recoge datos de acelerometría, GPS y presión atmosférica mediante sensores internos del móvil de forma continua [6]. Los primeros son procesados por la aplicación a medida que se van recogiendo mediante un algoritmo para calcular un índice de actividad en función del movimiento del smartphone. Este algoritmo ha sido diseñado para que el smartphone pueda ser llevado tanto en el bolsillo como en una bolsa. La Figura 2 muestra el aspecto de la visualización de los datos de actividad, la aplicación muestra la actividad realizada por horas del día actual y un histórico de la actividad acumulada por días, meses o años.

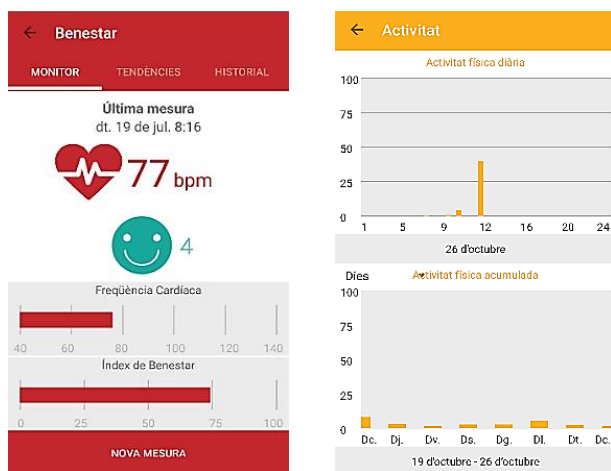


Figura 2. Aspecto de la aplicación de las funcionalidades de ritmo cardíaco y actividad física

2.4. Interacción social

La aplicación tiene una red social para favorecer el contacto entre todos los usuarios y que puedan ayudarse y animarse entre ellos. Por un lado, la red social permite colgar anuncios que pueden ver todos los usuarios. En la red social también se van colgando los logros de los usuarios en función de la evolución de sus indicadores de actividad física y bienestar. Por otro lado, la red social ofrece un chat para que los usuarios puedan conversar uno a uno. Además se pueden añadir comentarios y “me gusta” a los chats y anuncios.

3. Implementación de la aplicación

3.1. Arquitectura del sistema

La figura 3 representa la arquitectura del sistema que sigue el modelo de cliente-servidor para poder ofrecer las funcionalidades comentadas anteriormente y soportar

múltiples usuarios, en este caso la aplicación móvil *SeniorFit* es el cliente. La aplicación se ha implementado para Android OS en JAVA (v. 1.7), utilizando el Android SDK (v.23). *Seniorfit* es compatible con las versiones 5.x o 6.x de Android y utiliza la librería *Retrofit 2* para la conexión con el servidor y *GraphView* para mostrar los gráficos. La comunicación con el servidor se realiza de forma segura mediante el protocolo SSL certificado por terceros. Por otro lado, el servidor se encarga de recoger y almacenar de forma estructurada toda la información que va recogiendo la aplicación móvil. De esta forma los datos pueden ser analizados y visualizados por un tercero para que pueda monitorizar y evaluar los resultados tan pronto se van obteniendo. Además, la red social está alojada en el servidor. Para implementarla hemos utilizado el motor de redes sociales *Elgg* (v. 2.0.3).

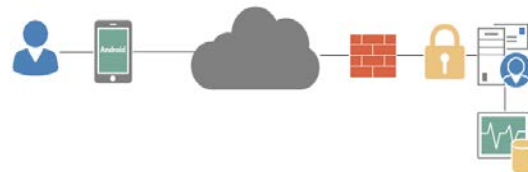


Figura 3. Arquitectura del sistema

3.2. Índices utilizados

El índice de actividad se estima cada minuto a partir de los datos de acelerometría del smartphone. Cada canal del acelerómetro (x, y, z) es interpolado linealmente a 20 Hz para obtener tres señales a frecuencia constante. A continuación, se combinan los tres canales mediante la media cuadrática y la señal resultante es filtrada paso alto a 0,76 Hz con un filtro de Butterworth de orden 2. Finalmente, el índice de actividad es el cociente entre el número de muestras que superan el umbral de $0,88 \text{ m/s}^2$ y 1200 (número de muestras en 1 minuto).

El pulso cardíaco se obtiene en tiempo real y de forma no invasiva mediante fotopleletismografía, utilizando la cámara trasera y el flash LED del smartphone. La aplicación procesa en tiempo real las imágenes de la cámara sobre la que el sujeto coloca la yema del dedo índice. A partir del promediado del canal verde de cada fotograma se obtiene la señal de la onda de pulso (PPG) a una frecuencia de muestreo de 30 fotogramas/s. Entonces, se extrae la serie temporal RR del intervalo de tiempo entre latidos a partir del tiempo transcurrido entre dos puntos fiduciales consecutivos del PPG [7,8]. La serie RR obtenida se utiliza para calcular el ritmo cardíaco medio y el índice de bienestar asociado al ritmo cardíaco. El índice de bienestar propuesto se ha definido como:

$$100 * \sqrt[3]{\min\left(1, \frac{SDSD}{RRSD}\right) * \min\left(1, \frac{avRR}{1000}\right) * \min\left(1, 20 * \frac{RRSD}{avRR}\right)}$$

donde *SDSD* es la desviación estándar de la diferencia entre intervalos RR consecutivos en ms, *RRSD* es la desviación estándar de todos los intervalos RR en ms y *avRR* es la duración media de todos los intervalos RR en ms. Previamente, se detectan y corrigen los artefactos de la serie RR utilizando el test de Grubbs. Estos parámetros tienen la propiedad de estar influenciados por cambios en

el sistema nervioso simpático y parasimpático y están relacionados con el estrés físico o mental.

4. Medidas provisionales

Durante los meses de junio y julio de 2016 se han realizado las primeras medidas en el grupo de interés. Para ello se ha medido a 6 voluntarios durante tres semanas. Los voluntarios eran 4 mujeres y 2 hombres con edades comprendidas entre los 63 años y los 76 años (media: 67,0 años, desviación estándar (SD): 4,8 años). Tres personas tenían un nivel de estudios primario o inferior, una tenía un nivel asimilable a la actual educación secundaria obligatoria mientras que dos terminaron bachillerato. Cinco de los voluntarios presentaban problemas visuales y uno de ellos problemas auditivos, 5 de los voluntarios tenían problemas para dormir durante la noche pero ninguno declaró problemas de adormecimiento durante el día. Ninguno expresó sufrir de problemas de dolores de cabeza, fatiga, temblores, pérdidas de consciencia, epilepsia o infecciones importantes en el pasado, 2 voluntarios declararon sufrir alguna vez mareos o vértigos (un voluntario incluso perdió recientemente la consciencia). Por último, dos voluntarios toman medicación para la hipertensión, uno es diabético y sólo uno de entre los seis voluntarios no toma medicamentos rutinariamente.

Antes de comenzar las medidas, los voluntarios fueron sometidos a un test cognitivo del que se desprende que ninguno de los voluntarios presenta problemas en este sentido. Además, en una entrevista previa se observó que en la rutina diaria, los voluntarios caminan entre 1 km y 5 km (Media: 2,75 km, SD: 1,29 km), cuatro de ellos realizan alguna otra actividad física semanal y sólo dos voluntarios consideran que realizan suficiente actividad física.

A cada uno de los voluntarios se les proporcionó un Samsung S5. Ellos mismos realizaron diariamente dos medidas de ritmo cardíaco, una a primera hora de la mañana y otra a última hora de la tarde. La duración de cada medida fue de 30 segundos. Transcurridas las tres semanas, se procedió a la recogida de los smartphones y los voluntarios respondieron a un cuestionario de satisfacción sobre la aplicación.

5. Resultados

La figura 4 muestra el registro de actividad del primer y segundo voluntario mientras que la figura 5 muestra la actividad acumulada (unidades arbitrarias) para ambos voluntarios respecto al tiempo transcurrido desde el inicio de la medida así como los residuos respecto al ajuste lineal. Esta gráfica proporciona información valiosa sobre la homogeneidad de la actividad física realizada. En la tabla 1 se muestra el ajuste lineal para cada uno de los sujetos de la actividad acumulada así como la correlación entre este parámetro y una línea recta y la desviación estándar de los residuos.

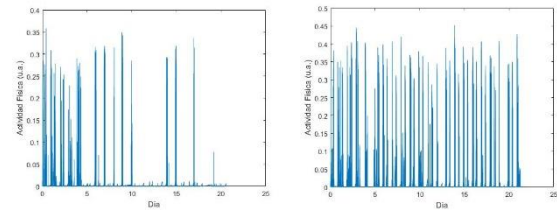


Figura 4. Registro de actividad de dos voluntarios

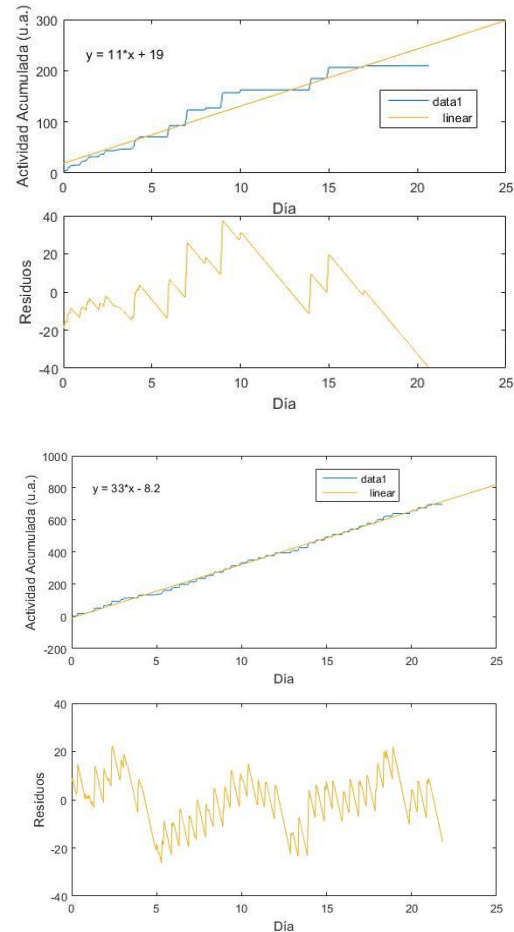


Figura 5. Registros de actividad acumulada en los dos voluntarios de la figura 3 y residuos mostrando la constancia (o inconstancia) en la realización de las medidas

Sujeto	Pendiente (u.a./día)	Paso por cero (u.a.)	Coefficiente de correlación (Pearson)	Desviación estándar de los residuos (u.a.)
1	11,2	19	0,974	15,8
2	33,2	-8,21	0,999	10,1
3	13,1	40,8	0,99	12,5
4	15,3	25,6	0,995	9,92
5	10,8	-5,55	0,997	5,74
6	17,5	13,5	0,998	7,69

Tabla 1. Cuantificadores de actividad por sujeto

Respecto a las medidas de ritmo cardíaco, la tabla 2 muestra los valores medios y desviación estándar tanto del

ritmo medio como del indicador de bienestar para cada sujeto.

Sujeto	Media Ritmo medio (bpm)	Desviación estándar Ritmo medio (bpm)	Media Índice de Bienestar (u.a.)	Desviación estándar Índice de Bienestar (u.a.)
1	63,5	7,05	63,1	10,3
2	64,2	6,06	96,9	2,43
3	69,9	7,09	66,4	7,8
4	60,9	5,4	83,2	9,16
5	72,6	3,98	75,1	7,46
6	85,1	6,88	67,1	8,31

Tabla 2. Cuantificadores de ritmo cardíaco por sujeto

Dado el bajo número de sujetos medidos, aún no se pueden obtener relaciones concluyentes entre los índices de ritmo cardíaco y actividad física realizada. No obstante, no deja de ser llamativo que el sujeto con menos constancia en el ejercicio (sujeto 1) tenga el peor índice de bienestar, mientras que el sujeto más constante y que ejercitaba en mayor medida (sujeto 2) es el que tiene el mayor índice de bienestar. No obstante, haría falta medir un número mayor de sujetos para poder afirmar la existencia o no de este tipo de relaciones.

Finalmente, respecto al cuestionario de satisfacción, los usuarios valoraron muy bien la aplicación. La tabla 3 muestra los resultados a las afirmaciones propuestas donde 1 debe entenderse como total desacuerdo mientras que 5 significa total acuerdo.

Sujeto	Mediana	Máximo	Mínimo
La medida de ritmo cardíaco es difícil de realizar	1	1	1
He comprendido el resultado de la medida de ritmo cardíaco	5	5	1
La visualización de los resultados de ritmo cardíaco es correcta	5	5	2
La visualización de los resultados de actividad física es correcta	5	5	1
Los resultados de actividad física cotejan con el ejercicio que he realizado	5	5	3
El uso de la aplicación ha influido en mi rutina diaria	1	3	1
Los cuestionarios son difíciles de responder	1	5	1
Creo que la aplicación es útil	5	5	4

Tabla 3. Resultados del cuestionario de satisfacción

6. Conclusiones

Se ha diseñado y desarrollado la aplicación *SeniorFit* para evaluar la adherencia a un estilo de vida saludable mediante la cuantificación de la actividad física e indicadores de bienestar a partir del ritmo cardíaco utilizando únicamente un smartphone. Un grupo de seis

personas mayores han utilizado la aplicación durante tres semanas con un alto grado de satisfacción y les ha resultado sencilla de utilizar.

Esta aplicación supone un punto de partida para evaluar la adherencia a un estilo de vida activo de forma unificada con una única aplicación. Es necesario ampliar el estudio a más personas para realizar un análisis más profundo, comparando los índices de ritmo cardíaco, actividad física y los resultados de los cuestionarios psicológicos.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la convocatoria de Recercaixa 2013 en el proyecto “Desenvolupament de marcadors d'estils de vida saludable per a gent gran basats en Smartphones” y el proyecto MINECO DEP2015-68538-C2-2-R. Los autores agradecen la participación del Casal de la Gent Gran de Gelida (Barcelona) en las medidas.

Referencias

- [1] Página web de la OMS. Enfermedades no transmisibles. <http://www.euro.who.int/en/health-topics/noncommunicable-diseases/noncommunicable-diseases>. (Consultada: septiembre 2016).
- [2] Página web de la OMS. Estilo de vida saludable. <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle>. (Consultada: Mayo 2016).
- [3] McNair DM, Lorr M, & Droppleman LF. Manual for the Profile of Mood States. San Diego, California: EdITS/Educational and Industrial Testing Services. (1992).
- [4] Alonso J. Versión española de SF-12v2™ Health Survey © 1992, 2002.
- [5] Garcia-Campayo J, Sanz-Carrillo C, Ibañez JA, Lou S, Solano V, Alda M. Validation of the Spanish version of the SCOFF questionnaire for the screening of eating disorders in primary care. *Journal of Psychosomatic Research*, vol 59, sup 2, 2005, pp 51-4 (ISSN: 0022-3999).
- [6] Guede-Fernandez F, Carbonés B, Capdevila L, Garcia-Gonzalez MA, Ramos-Castro J and Fernandez-Chimeno M. Assessment of Energy Expended in Physical Activity by a Smartphone-Based System. *Proceedings of the 6th European Conference of the International Federation for Medical and Biological Engineering (MBEC)*, Dubrovnik, 2014, pp 893-6.
- [7] Guede-Fernandez F, Ferrer-Mileo V, Ramos-Castro J, Fernandez-Chimeno M, and Garcia-Gonzalez MA. Real time heart rate variability assessment from android smartphone camera photoplethysmography: postural and device influences. *Proceedings of the 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, Milan, 2015, pp 7332-35.
- [8] Ferrer-Mileo V, Guede-Fernandez F, Fernandez-Chimeno M, Ramos-Castro J, and Garcia-Gonzalez MA Accuracy of Heart Rate Variability Estimation by Photoplethysmography using an Smartphone: Processing Optimization and Fiducial Point Selection. *Proceedings of the 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, Milan, 2015, pp 5700-03.

Dispositivos Personalizados para la Monitorización e Interacción con Entornos Virtuales en Rehabilitación de la Extremidad Superior

J. Ontiveros Ravell¹, F. Molina¹, M. Almenara Masbernat², I. Soriano², P. Sánchez-González¹, E. Opisso², M.E. Hernando¹, J.M. Tormos², J. Medina², E.J. Gómez¹

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI, Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, España. {jontiveros, fmolina, psanchez,elena, egomez}@gbt.tfo.upm.es

² Institut Guttmann, Neurorehabilitation Institut, Fundació Institut, d'investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol, Badalona, España, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España. {malmenara, isoriano, eopisso,jmtormos, jmedina}@guttmann.com

Resumen

Este trabajo presenta una nueva propuesta en las terapias de neurorehabilitación basándose en la aplicación de dispositivos creados a medida para la monitorización de pacientes y la interacción con contenidos virtuales. Se ha realizado una prueba de concepto en el Hospital de neurorehabilitación Institut Guttmann con ocho pacientes, los resultados de la prueba realizada han permitido observar una buena aceptación de los dispositivos por los pacientes y han demostrado su viabilidad técnica. El objetivo final es conseguir métodos de rehabilitación más personalizados, monitorizados e intensivos.

1. Introducción

De acuerdo al informe realizado por la FEDACE con la colaboración del Real Patronato sobre la Discapacidad durante el año 2015; en España viven 420.000 personas con Daño Cerebral Adquirido (DCA). El 78% de los casos tuvieron su origen en un ictus y el 22% restante en Traumatismos Craneoencefálicos (TCE). Cada año se dan 104.071 nuevos casos de DCA: 99.284 accidentes cerebrovasculares, 4.937 por TCE y 481 por anoxias [1]. Las personas con acceso a programas de rehabilitación intensivos y multidisciplinarios, han demostrado una recuperación más rápida, requiriendo estancias hospitalarias más cortas. Sin embargo, los procesos de rehabilitación cuyo objetivo es mejorar el control de movimiento, amplitud de movimiento, exactitud y coordinación óculo-manual, suelen ser procedimientos con actividades repetitivas, y usualmente los pacientes se frustran y aburren de los ejercicios de rehabilitación [2][3]. En la literatura se puede observar como desde el surgimiento de las nuevas tecnologías, como son los contenidos virtuales y los videojuegos han ido contribuyendo a la rehabilitación y son una forma interesante y efectiva para brindar la rehabilitación a las personas con DCA. Los sistemas configurables y programables pueden motivar y alentar a los pacientes a realizar su rehabilitación de manera adecuada, al mejorar la forma en que se involucran y se sumergen en su proceso de rehabilitación [4]. Se han reportado distintos enfoques para la rehabilitación de la extremidad superior para DCA

utilizando varias tecnologías para realizar tareas de rehabilitación, incluyendo la captura de video y la Realidad Virtual (VR) así como la captura 3D del movimiento de la mano para la interacción con contenido virtual [5], normalmente estas tecnologías se han utilizado para el seguimiento de posición y orientación de las extremidades de los usuarios, incluso se han utilizado sensores inerciales para la captura del movimiento de la extremidad superior para la neurorehabilitación utilizando actividades de la vida diaria[6], más recientemente con las aparición de las cámaras de profundidad también se han utilizado dispositivos como el sensor Microsoft Kinect [7][8]. Un objetivo típico de la rehabilitación del miembro superior puede ser el realizar tareas de agarre, en donde el usuario debe de alcanzar un objeto virtual o controlar un modelo virtual para realizar una acción específica. Para ello se han utilizado dispositivos como Guantes para captura de datos que pueden realizar el seguimiento de los dedos y reconocer agarres [9]. Una solución alternativa se ha planteado con el uso del sensor Kinect que igual realiza un seguimiento de las manos [10].

Los sistemas actuales de Realidad Virtual y sistemas avanzados de video-captura aún presentan costos elevados, y suelen ser complicados de configurar necesitando ser manipulados por expertos, por este motivo diferentes investigadores han considerado el uso de dispositivos comerciales como consolas de videojuego y dispositivos de interacción. Se han utilizado dispositivo como el Sony EyeToy una cámara web para el PlaysStation[11], el mando WiiMote de Nintendo[12], el Microsoft Kinect del Xbox [10], teniendo como principal ventaja el bajo coste comparado con sistemas de captura y realidad virtual especializados.

El uso de dispositivos comerciales tiene como ventaja la aceptación masiva que ofrecen, la facilidad de feedback y costos accesibles. Sin embargo, estos dispositivos no han sido específicamente diseñados para uso terapéutico, por lo que ni los sistemas de captura de movimiento como el WiiMote o el Kinect, son capaces capturar la información

suficiente para ser totalmente útiles en la rehabilitación del miembro superior [13].

Este trabajo de investigación se enfoca en crear dispositivos y entornos virtuales de bajo coste, específicamente diseñados para rehabilitación del miembro superior, que sean capaces de obtener la información necesaria para ser útiles en terapias de rehabilitación funcional, proveyendo procedimientos de rehabilitación más personalizados, monitorizados, intensivos y naturales para los pacientes con DCA.

El presente artículo se conforma por las siguientes secciones: Sección 2 reporta los materiales y métodos para el desarrollo de un primer prototipo de dispositivos para rehabilitación, Sección 3 Resultados reporta los resultados de una primera prueba de concepto de los prototipos realizada y evaluada con ocho pacientes en el Hospital Institut Guttmann, los cuales han realizado cuestionarios de aceptación y usabilidad, Sección 4 Discusión reporta y se comentan los resultados y ventajas obtenidas durante las primeras pruebas, Sección 5 reporta las conclusiones obtenidas de la prueba de concepto.

2. Materiales y Métodos

El diseño y desarrollo de los dispositivos de interacción ha sido realizado a través de una investigación interdisciplinaria con el Hospital de Neurorrehabilitación Institut Guttmann donde se identificaron las necesidades de los usuarios para la monitorización de las tareas de rehabilitación. Para alcanzar este objetivo diferentes etapas se llevaron a cabo: 1) El modelado de las actuales tareas de rehabilitación; 2) Selección y especificación de las actividades a ser desarrolladas; 3) Diseño y evaluación de un primer prototipo y 4) El desarrollo y la evaluación preliminar de una prueba de concepto.

En este trabajo se aborda el diseño y desarrollo de los dispositivos de interacción principalmente; los entornos virtuales han sido desarrollados y adaptados para integrar los nuevos dispositivos y solventar limitaciones y dificultades encontradas en una primera versión del entorno virtual como reporta F. Molina, et. al [8]. Después del análisis de las diferentes áreas de rehabilitación, se decidió trabajar dentro del área de terapia ocupacional. Se identificaron catorce actividades, de entre las cuales se seleccionaron: la actividad de Disociación de dedos y la actividad de Coordinación Bimanual.

2.1. Actividad de Disociación de Dedos

Esta actividad se enfoca en la estimulación de las manos mediante el movimiento y la disociación de los dedos. El entorno virtual ha sido adaptado para imitar un pentagrama musical e ir indicando la mano y el dedo a utilizar [Figura 1]. En la versión anterior se utilizó un teclado de piano y el seguimiento de las manos mediante cámaras de profundidad, lo que dificultaba a los pacientes el ubicarse adecuadamente en un entorno de tres dimensiones sin una guía física a la cual poder recurrir, para mejorar la interacción se desarrolló un primer

prototipo que consta de dos mandos con botones que indican visualmente que dedo y manos se debe de utilizar durante la ejecución de la tarea [Figura 2]. El objetivo de esta actividad es el de mejorar la coordinación óculo-manual, la movilidad de los dedos y la coordinación motora fina y estimular los dedos a un nivel propioceptivo y sensitivo.

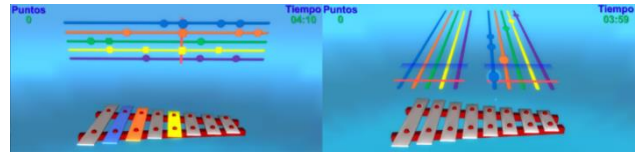


Figura 1. Entorno Virtual para Actividad Disociación de Dedos.

El dispositivo desarrollado para esta actividad está conformado por los siguientes componentes:

- Módulo de interacción háptica conformado por un sensor de fuerza resistivo (FSR) para realizar la medición de la fuerza aplicada cuando la resistencia interna cambia debido a la fuerza ejercida sobre la superficie del sensor.
- Botón con luz para brindar feedback visual a los pacientes, construido mediante un módulo LED RGB programable, con comunicación serial entre módulos.

El dispositivo ha sido diseñado como dos teclados, una para cada mano [Figura 2]. Cada teclado consta de cinco botones representando a cada uno de los dedos de cada mano, este diseño facilita la interacción y la compresión de la actividad de rehabilitación durante su ejecución. La fuerza aplicada sobre cada botón es registrada mediante el FSR al momento de presionar cada uno de los botones, esto permite conocer la fuerza que es capaz de ejercer cada paciente con cada uno de sus dedos, la información adquirida es procesada y enviada a la PC mediante comunicación Bluetooth, la cual es registrada y almacenada en un fichero independiente para cada paciente. Además, para un entendimiento más práctico de la actividad un feedback óptico fue incluido, que corresponde al color de cada una de las notas que se enseñan en pantalla. Este feedback utiliza el módulo RGB para realizar la iluminación multicolor.



Figura 2. Modelo 3D y Prototipo 3D impreso.

2.2. Actividad de Coordinación Bimanual

Esta actividad se enfoca en la manipulación de objetos haciendo uso de ambas manos. El entorno virtual consiste en un barco que puede ser guiado a la derecha o la izquierda para ir evitando obstáculos [Figura 3]. En la versión anterior se utilizó un entorno que simulaba la conducción de un coche, realizando el control mediante un volante el

cual era seguido por el sensor Kinect, el principal problema encontrado fue la pérdida de los marcadores del volante lo que dificultaba la conducción y que el entorno resultaba no del todo agradable a los pacientes que estuvieran en rehabilitación por un accidente de tránsito. El objetivo principal de esta actividad es el mejorar la coordinación y la atención. Para la interacción el dispositivo desarrollado consiste en un timón [Figura 4], el utilizar la forma de un timón permite mejorar el agarre y manipulación utilizando ambas manos.



Figura 3. Entorno Virtual para Actividad Coordinación Bimanual.

El diseño de este dispositivo está conformado por los siguientes componentes:

- Unidad de Medición Inercial (IMU) permite obtener la aceleración en los ejes XYZ y la velocidad angular, con lo que se puede conocer el ángulo de giro del timón.
- Módulo de Sensor Ultrasónico capaz de medir la distancia que el timón se ha desplazado hacia adelante o hacia atrás.

El timón puede realizar la medición de ángulos mientras es rotado, esto permite conocer y medir cuánto es capaz de girar cada paciente el dispositivo. Para realizar los cálculos la información, de aceleración y movimiento, obtenida a través de la IMU, es procesada y enviada al PC mediante conexión Bluetooth. Además, para calcular la distancia que el timón ha sido movido hacia adelante o hacia atrás se utiliza un sensor ultrasónico. Este dispositivo permite utilizar una o dos manos fácilmente cuando la tarea de rehabilitación así lo requiere.

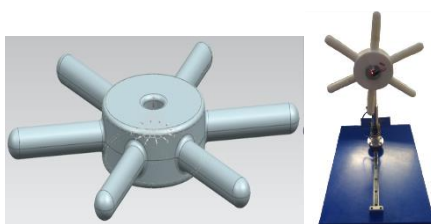


Figura 4. Modelo 3D y Prototipo 3D impreso.

La novedad de este enfoque, al desarrollar dispositivos de bajo coste especialmente diseñados para la terapia de rehabilitación ocupacional de la extremidad superior, es el conseguir sistemas capaces de monitorizar en tiempo real los movimientos de los pacientes con sensores especializados para la adquisición de información específica y útil para las terapias, así como la integración del feedback adecuado para los pacientes.

Una vez desarrollados los dispositivos se realizó una prueba de concepto, en la que participaron 8 pacientes con DCA [Tabla 1], ejecutando las actividades con la supervisión y asistencia de terapeutas. Todas las pruebas realizadas han sido aprobadas por el Comité de Ética Asistencial del Hospital Institut Guttmann, todos los pacientes han firmado el consentimiento informado. Adicionalmente, los pacientes contestaron encuestas sobre aceptación y usabilidad, basadas en la escala de usabilidad (SUS) [14].

Paciente	Edad (años)	Género	Tipo de Lesión	Lado de Lesión	Tiempo de Lesión (Días)
1	56	Masculino	Ictus hemorrágico	Derecho	100
2	51	Masculino	Ictus hemorrágico	Izquierdo	134
3	63	Masculino	Ictus isquémico	Derecho	283
4	41	Masculino	Lesión medular	Bilateral	382
5	55	Masculino	Ictus hemorrágico	Izquierdo	90
6	47	Masculino	Ictus hemorrágico	Bilateral	333
7	52	Masculino	Ictus hemorrágico	Derecho	139
8	27	Masculino	TCE	Bilateral	249

Tabla 1. Características pacientes participantes en las pruebas

Los dispositivos desarrollados y los entornos virtuales para rehabilitación de la extremidad superior han sido evaluados como una prueba de concepto. La intención de la encuesta es conocer la aceptación general de ambas actividades dentro de las terapias.

3. Resultados

Como resultado del trabajo se han desarrollado los dispositivos de interacción para los entornos virtuales, para facilitar su utilización y además adecuarse a las necesidades y objetivos específicos de las terapias de rehabilitación. De acuerdo a los resultados de las encuestas, ambas actividades son divertidas y en general cómodas de utilizar para los usuarios. La actividad de coordinación bimanual presenta una menor comprensión durante su ejecución en comparación a la actividad de disociación de dedos, este resultado se debe a la curva de aprendizaje en utilizar de manera adecuada el dispositivo correspondiente.



Figura 5. Gráfica de Aceptación y Usabilidad.

Los resultados de aceptación muestran un alto grado de satisfacción en general por parte de los pacientes hacia ambas actividades. Se puede observar que al utilizar e interactuar con los nuevos dispositivos desarrollados, los pacientes se sienten seguros utilizándolos y los incluirían como parte de sus terapias, incluso les gustaría que estuvieran disponibles para continuar sus terapias en casa.

4. Discusión

El estudio ha mostrado algunas de las limitaciones a considerar. Una primera limitante es la cantidad de pacientes disponibles para calificar las actividades y de esta manera obtener un mejor feedback. Además, en esta primera fase piloto, se identificaron principalmente

limitaciones físicas en los dispositivos, para ser adaptables a todas las configuraciones de los diferentes pacientes ya que existen pacientes más limitados que otros. Sin embargo, pueden ser mejorados en futuros diseños creando dispositivos más adaptables y con mayor posibilidad de configuración lo cual es extensible a los nuevos prototipos de otras actividades. De este estudio preliminar se puede destacar la buena aceptación de los dispositivos y su fácil asociación por partes de los pacientes con sus antiguas actividades de rehabilitación.

Las ventajas en comparación a otros trabajos basados en dispositivos comerciales como el presentado por I. Pastor et al [10], D. Rand et al [11], R.S. Leder et al [12], es la precisión que provee el desarrollar específicamente para temas de rehabilitación, así como la facilidad de interacción para los pacientes con las tareas terapéuticas evitando frustración innecesaria y la adquisición suficiente de datos que no siempre se consigue con sistemas adaptados para la rehabilitación, además de que los dispositivos desarrollados se mantienen como low-cost.

5. Conclusiones

Este trabajo presenta nuevos dispositivos de monitorización e interacción para los contenidos virtuales utilizados en la rehabilitación de la extremidad superior de pacientes con DCA. La prueba de concepto ha demostrado la factibilidad de incluir estos sistemas en la rutina clínica y ha demostrado la buena aceptación de las nuevas tecnologías por parte de los pacientes. Las encuestas también han permitido la identificación de limitaciones existentes en los prototipos actuales las cuales pueden ser mejoradas en trabajos futuros. Por ahora únicamente dos actividades han sido incluidas para una primera fase piloto. Dentro de los trabajos futuros se incluirán nuevas actividades y nuevos dispositivos para cubrir necesidades específicas de cada actividad de rehabilitación. Además, se pretende aumentar el número de pacientes que participen en la evaluación y pruebas clínicas. El reto final de este trabajo de investigación es conseguir procedimientos de rehabilitación personalizados, monitorizados e intensivos para pacientes con DCA.

Agradecimientos

Nuestro especial agradecimiento al departamento de investigación y de rehabilitación funcional del Hospital Institut Guttmann por su colaboración en el desarrollo de este trabajo. Esta investigación ha sido parcialmente financiada por el Grupo de Bioingeniería y Telemedicina de la Universidad Politécnica de Madrid, el proyecto SensingToys (ITP-2012-1063-300000) financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad y una beca de investigación del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT).

Referencias

- [1] Federación Española de Daño Cerebral (2016). Disponible: <https://fedace.org/dano-cerebral-adquirido.html>.
- [2] N. Hocine, A. Gouaïch, S. A. Cerri, D. Mottet, J. Froger, I. Laffont. "Adaptation in serious games for upper-limb rehabilitation: an approach to improve training outcomes." *User Modeling and User-Adapted Interaction* 25.1 (2015): 65-98.
- [3] J. W. Burke, M. D. J. McNeill, D. K. Charles, P. J. Morrow, J. H. Crosbie, S. M. McDonough. Optimising engagement for stroke rehabilitation using serious games. *The Visual Computer*, 25(12) (2009), 1085-1099.
- [4] B.G. Witmer, M.J. Singer: "Measuring presence in virtual environments: a presence questionnaire". *Presence* 7 (1998), 225-240.
- [5] D. Jack, R. Boian, A. Merians, S. Adamovich, M. Tremaine, M. Recce, et al. "A virtual reality-based exercise program for stroke rehabilitation". *Proceedings of the 4th international ACM conference on assistive technologies*, ACM, 2000.
- [6] R. Pérez, U. Costa, M. Torrent, J. Solana, E. Opisso, C. Cáceres, J.M. Tormos, J. Medina, J. Tormos Muñoz, E.J. Gómez. "Upper Limb Portable Motion Analysis System Based on Inertial Technology for Neurorehabilitation Purposes". *Sensors* 10.12 (2010), 10733-10751.
- [7] B. Lange, C.Y. Chang, E. Suma, B. Newman, A.S. Rizzo, M. Bolas, "Development and evaluation of low cost game-based balance rehabilitation tool using the Microsoft Kinect Sensor", *Engineering in Medicine and Biology Society, EMBC, 2011, Annual International Conference of the IEEE. IEEE, 2011.*
- [8] F. Molina, C. Gómez, J. Ontiveros, M. Villan, R. Pérez, C. Martín, E. Opisso, J. Medina, J. Tormos Muñoz, E. Gómez. "Contenidos Virtuales para Neurorehabilitación Funcional de la Extremidad Superior utilizando el Sensor Microsoft Kinect", CASEIB, 2014.
- [9] Y. Choi. Ubi-rehab: An android-based portable augmented reality stroke rehabilitation system using the eglove for multiple participants. In *2011 International Conference on Virtual Rehabilitation (2011)* (pp. 1-2). IEEE.
- [10] I. Pastor, H. A. Hayes, S. J. Bamberg. A feasibility study of an upper limb rehabilitation system using kinect and computer games. In *2012 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (2012)* (pp. 1286-1289). IEEE.
- [11] D. Rand, R. Kizony, P.L. Weiss: Virtual reality rehabilitation for all: Vivid GX versus Sony PlayStation II EyeToy. In: *Proc. 5th Intl. Conf. on Disability, Virtual Reality & Associated Tech '04*, pp. 87-94 (2004)
- [12] R. S. Leder, G. Azcarate, R. Savage, S. Savage, L. E. Sucar, D. Reinkensmeyer, A. Molina. Nintendo Wii remote for computer simulated arm and wrist therapy in stroke survivors with upper extremity hemiparesis. In *2008 Virtual Rehabilitation* (pp. 74-74) (2008). IEEE.
- [13] P. J. Standen, K. Threapleton, L. Connell, A. Richardson, D. J. Brown, S. Battersby, F. Platts. Patients' use of a home-based virtual reality system to provide rehabilitation of the upper limb following stroke. *Physical therapy*, 95(3) (2015), 350-359.
- [14] J. Brooke, "SUS - A quick and dirty usability scale", *Usability evaluation in industry* 189.194 (1966), 4-7.

Plataforma PERSSILAA: Algoritmos y herramientas de ayuda a la decisión para la prevención de la fragilidad en personas mayores

J. Solana Sánchez^{1,2}, F.J. Gárate Barreiro^{1,2}, A. García-Rudolph³, R. Sánchez-Carrión³,
E. Hernando Pérez^{1,2}, E. Opisso³, E.J. Gómez Aguilera^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación (UPM), Madrid, España

{jsolana,fjgarate,elena,egomez}@gbt.tfo.upm.es

² Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, España

³ Institut Universitari de Neurorehabilitació Guttmann-UAB, Barcelona, España.

{agarcia,rsanchezcarrion,eopisso}@guttmann.com

Resumen

El Proyecto PERSSILAA “PERSONALISED ICT SUPPORTED SERVICES FOR INDEPENDENT LIVING AND ACTIVE AGEING” es un proyecto europeo financiado por el FP7 en el que se desarrolla y valida un nuevo modelo de servicio, para detectar y prevenir la fragilidad en comunidades de personas mayores, integrando los dominios cognitivos, físico y nutricional. PERSSILAA se compone de distintos módulos, screening, monitorización y entrenamiento. En este artículo se describen los algoritmos y herramientas que se utilizarán en el intelligent core de la plataforma PERSSILAA compuesto por distintos métodos computacionales que permiten extraer conocimiento, reconocimiento de patrones, clasificación y detección automática de cambios cubriendo los dominios cognitivo, físico y nutricional a partir de los datos generados por los distintos módulos y el contexto particular del usuario. Hasta el momento, 573 usuarios han participado en el estudio, que han sido agrupados en 8 clusters diferentes, obteniendo un alto grado de personalización gracias a los algoritmos implementados.

1. Introducción

El Proyecto PERSSILAA “PERSONALISED ICT SUPPORTED SERVICES FOR INDEPENDENT LIVING AND ACTIVE AGEING” es un proyecto FP7 de financiación Europea conformado por un consorcio (ocho socios de 5 países) en el que se combinan ciencias sociales, médicas y tecnológicas con organizaciones industriales, académicas y de usuarios finales, con el objetivo de desarrollar una plataforma basada en las TIC que permita identificar y gestionar comunidades de personas mayores en riesgo de fragilidad.

Durante las últimas décadas en muchos países y especialmente en Europa se ha producido un aumento de la esperanza de vida y una importante caída de la fecundidad que ha provocado un envejecimiento de la población, la proporción de personas mayores de 60 años crece más rápido que cualquier otro grupo de edad. Esto constituye un reto para la sociedad, que debe adaptarse para maximizar la salud y la capacidad funcional de las personas mayores, así como fomentar su participación social y su seguridad [1].

Se han propuesto distintas definiciones sobre el concepto de fragilidad, pero no existe un consenso sobre qué definición debe ser la aceptada. En este sentido, uno de los objetivos de PERSSILAA ha sido el de ilustrar las

formas en que se puede definir el concepto de fragilidad de forma que sea compartido por todos los participantes del proyecto y refleje los objetivos del modelo de servicio definido. Finalmente se consensuó entre los socios el elegir como definición de fragilidad la propuesta por la Asociación Europea de Innovación en Envejecimiento Activo y saludable (EIP on AHA) que dice “Se considera persona frágil a aquellos mayores que están en riesgo de empeorar en algún indicador clínico, como es el desarrollo de discapacidad, demencia, caídas, hospitalización o mortalidad” [2]. En este sentido, se puede decir que la pre-fragilidad es un punto de transición, una etapa intermedia entre la no-fragilidad y la fragilidad [3].

La fragilidad está relacionada con el aumento de la edad, de forma que el 30% de las personas mayores de 90 años puede considerarse frágil [4]. Las estimaciones varían en función de las comunidades estudiadas, con una tasa de prevalencia mínima del 7% [5] hasta una máxima del 40-50% [6] en mayores de 65 años. La fragilidad en personas mayores suele traer como consecuencia el aumento de ingresos hospitalarios, incapacidad severa y, finalmente, la muerte [7]. Para los sistemas de salud la fragilidad resulta muy cara, generando un gasto que será difícil de mantener para las generaciones futuras [8].

Así pues, la plataforma PERSSILAA está formada en esencia por los bloques de *screening*, entrenamiento y monitorización y transversalmente una capa con el *intelligent core*, que tiene como objetivo detectar y prevenir la fragilidad y el deterioro funcional en los dominios cognitivo, físico y nutricional. El modelo de servicio comienza invitando a los usuarios a participar en una primera fase de *screening* que podrán realizar desde sus casas en el caso de disponer de ordenador. En caso contrario, un grupo de voluntarios ayudará a los usuarios y registrará los resultados de los cuestionarios en el sistema. En función de los resultados obtenidos se clasifica a los usuarios en frágil, pre-frágil o robusto. Si son clasificados como robustos se les instará a repetir el estudio al año siguiente, si son clasificados como frágiles se les remitirá a su médico de cabecera y, finalmente, si son clasificados como **pre-frágiles** pasarán al segundo *screening*, en el que se realiza una evaluación más detallada consistente en unos cuestionarios y en la

realización de una serie de ejercicios bajo la supervisión de un facultativo en la que se identificará con mayor precisión en qué dominios (cognitivo, físico y nutricional) el usuario tiene problemas.

En este contexto, surge la necesidad del desarrollo de una capa denominada *intelligent core* que permita la personalización de los distintos módulos, realice una predicción de la evolución con el fin de anticiparse y prevenir riesgos en la salud, detecte cambios no deseados en la salud y provea a los usuarios de *feedback* sobre su evolución mediante un sistema de recordatorios, avisos y alertas personalizados.

2. Diagrama de bloques de la arquitectura

Aunque la plataforma PERSSILAA ya ha sido presentada con anterioridad [9], sí se considera necesario una breve explicación de aquellos módulos que nutren de información al *intelligent core*.

- **Módulo de *screening*:** se compone de una serie de herramientas de detección multidimensionales (cuestionarios online) que cubren los dominios cognitivo, físico y nutricional.
- **Módulos de entrenamiento:** una vez finalizada la fase de *screening* y en función del estado del usuario, la plataforma plantea un programa de entrenamiento. Para el entrenamiento del dominio cognitivo se emplea el Guttman Neuro Personal Trainer (GNPT) [10], para el entrenamiento físico se integra la plataforma web Condition Coach (CoCo) [11], mientras que el entrenamiento nutricional se realizara en el sitio web llamado Nutriageing [12].
- **Monitorización:** este módulo es el encargado de gestionar e integrar los servicios de monitorización. La monitorización de la actividad física se hace a través del dispositivo *fitbit* que registra la actividad diaria de cada usuario. Para la monitorización cognitiva se han definido una serie de tareas cognitivas específicas de GNPT. Por último, para la monitorización nutricional se emplearan básculas inteligentes (*Withings Smart scale*) así como cuestionarios online que permitirán seguir los hábitos alimentarios de cada usuario. Así mismo, se han definido una serie de cuestionarios similares a los realizados en la fase de *screening* que los usuarios repiten cada tres meses.
- ***Intelligent core*:** este módulo analiza y procesa la información generada por los distintos módulos de PERSSILAA (*screening*, entrenamiento y monitorización) con el objetivo de proponer entrenamientos personalizados, prever la evolución de los usuarios a partir de la seguida previamente por usuarios con características parecidas y detectar cambios en indeseados en la evolución esperada. Los bloques principales en los que se divide el *intelligent core* son:
 - **Clasificación:** en este bloque se implementan los métodos de clasificación encargados de agrupar a los usuarios con características similares, a partir de los datos obtenidos en el *screening*. De esta forma se pretende comparar la evolución de los usuarios pertenecientes al mismo *cluster*, y en función de la evolución sufrida anteriormente por los usuarios clasificados en el mismo *cluster* determinar los servicios que les fueron más beneficiosos para proponerlo a los nuevos usuarios. Posteriormente se irá incorporando la información generada en los módulos de monitorización y entrenamiento, y periódicamente se generarán clasificaciones secundarias que darán información de la evolución de las variables de fragilidad.
 - **Knowledge discovery:** el objetivo de este bloque es extraer el conocimiento de los datos contenidos en las distintas bases de datos de PERSSILAA. Para ello, en primer lugar se analiza cada uno de los tres dominios clínicos definidos en el proyecto (cognitiva, física y nutrición) de forma independiente, tratando de identificar las variables que son relevantes para determinar el estado de fragilidad del usuario y su posible evolución, para posteriormente determinar las relaciones entre los tres dominios en conjunto.
 - **Reconocimiento de Patrones:** En este bloque se pretende identificar patrones de comportamiento con el objetivo de extraer conocimiento significativo y útil a partir de la información generada por los usuarios al utilizar los distintos módulos de la plataforma. Para ello se emplean técnicas de minería de datos tales como agrupamientos, reglas de asociación y descubrimiento de patrones.
 - **Predicción:** A partir del conocimiento extraído de los datos almacenados en el sistema y de las desviaciones detectadas en los patrones de comportamiento de los usuarios, en este módulo se implementan los métodos de predicción necesarios para anticipar las acciones necesarias para prevenir el deterioro funcional. Para ello, se analiza la información recopilada de todo usuario (desde los módulos de *screening*, monitorización y entrenamiento) y así anticiparse a los cambios detectados en el comportamiento esperado, comparando con resultados anteriores y la evolución de los pacientes asignados al mismo grupo.
 - **Contexto personal:** Este módulo es el encargado de la generación automática de *feedback* a los usuarios. Por otra parte, en este módulo se ha diseñado e implementado un sistema de notificaciones automáticas donde se generan avisos, recordatorios y alertas personalizadas para cada usuario, no sólo personas mayores, sino también cuidadores y clínicos. Por ejemplo, se genera un recordatorio si para un determinado día el usuario aun no a realizado las tareas cognitivas GNPT programadas, o determina

automáticamente cuál de los tres módulos de entrenamiento será más beneficioso para cada usuario en función del *cluster* en que haya sido asignado.

3. Algoritmos y herramientas de ayuda a la decisión para la prevención de la fragilidad en las personas mayores

Para conseguir una prevención eficiente de la fragilidad se hace necesario dotar a la plataforma de un alto nivel de personalización que se adapte a las necesidades y particularidades de cada uno de los usuarios con el objetivo de detectar precozmente las manifestaciones clínicas que pueden indicar un riesgo de fragilidad.

El *intelligent core* tiene como objetivo proporcionar los métodos y algoritmos computacionales que permiten a la plataforma PERSILAA:

- Clasificar pacientes en función de la información obtenida en los cuestionarios, agrupando a los pacientes con características similares.
- Actualizar la clasificación de los usuarios durante el periodo de uso de la plataforma, de acuerdo con la información obtenida en los módulos de monitorización y entrenamiento.
- Identificar y analizar las variables más relevantes que caracterizan el estado de fragilidad, tanto para cada uno de los dominios independientes como para las posibles relaciones entre ellos.
- Comparar los resultados de cada usuario con la evolución que previamente han seguido los usuarios clasificado en el mismo *cluster*.
- Desarrollar un sistema inteligente que genere notificaciones, alertas y recomendaciones de forma automática en función de las características y necesidades de cada usuario, detectando si se producen cambios anómalos en el comportamiento.

3.1. Descripción general del proceso

La figura 1 representa el flujo del proceso definido para cumplir con los objetivos definidos en el *intelligent core*:

1. Tras la primera fase de *screening*, los usuarios son clasificados en fragiles, pre-fragiles o rubustos, siendo los pre-fragiles invitados a un segundo *screening*. A partir de estos datos se genera el denominado *frailty profile*, para después aplicar técnicas de clasificación que identifican los ditintos grupos de usuarios con características similares.
2. Teniendo en cuenta las necesidades particulares de cada usuario de propone un programa de entrenamiento personalizado
3. Con los datos obtenidos durante el entrenamiento y los generados durante la monitorización se actualiza el *frailty profile* con el fin de adaptar el programa de entrenamiento a la evolución del usuario.

4. Durante todo el proceso se realiza un seguimiento de la evolución de los resultados obtenidos por cada usuario con el fin de detectar variaciones sobre el rendimiento esperado.
5. Se han implementado una serie de mensajes, alerta y recordatorios automáticos con el fin de motivar y guiar al usuario durante el entrenamiento

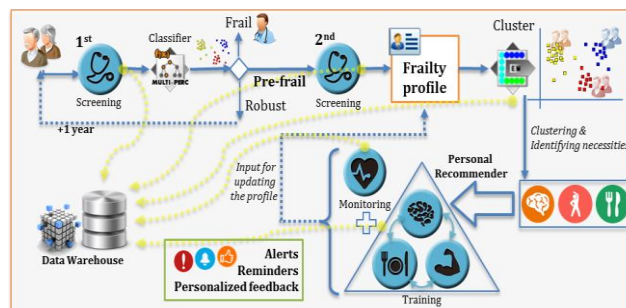


Figura 1. Concepto de núcleo inteligente en PERSILAA

4. Resultados y discusión.

Actualmente, la plataforma cuenta con más de 3.800 usuarios registrados entre investigadores, coordinadores, voluntarios y personas mayores. De estos últimos 3.560 han realizado la primera fase de *screening*, el 60% de los usuarios fue clasificado como robusto, el 17% como frágil y el 23% restante fue clasificado como pre-frágil. La segunda fase del *screening* ha sido realizada por 573 usuarios, de los cuales el 97% ha sido re-clasificado como pre-frágil y el 3% como robusto. En el momento de escribir este artículo se está realizando una nueva fase de *screening* con los usuarios clasificados como robustos el pasado año, lo que permitirá observar la evolución que han seguido estos usuarios y ayudar determinar qué variables son más importantes para prevenir la fragilidad.

A todos los usuarios que han completado la segunda fase del *screening* se les ha creado un *frailty profile* y, a partir de éste, se les ha asignado un *cluster*. El algoritmo de *clustering* implementado ha sido *Expectation Maximization* (EM), técnica de *clustering* que determina la probabilidad de que un usuario pertenezca a un determinado *cluster*. Para la creación del modelo se ha empleado la herramienta WEKA (Universidad de Waikato, Nueva Zelanda).

La Tabla 1 muestra el número de usuarios asignados a cada uno de los 8 *cluster* calculados para los 573 usuarios que actualmente han finalizado el segundo *screening*.

Cluster	Nº usuarios
0	12
1	102
2	60
3	70
4	55
5	121
6	66
7	87

Tabla 1. Número de usuarios asignados a cada *cluster*.

En los *clusters* 2, 3 y 5 se encuentran los usuarios con las afectaciones más leves, en los *clusters* 1, 4, 6 y 7 se encuentran los usuarios con afectaciones medias, mientras que en el *cluster* 0 se encuentran los usuarios con las afectaciones más severas. Dado que el *intelligent core* sigue evolucionando, se trabaja junto con expertos clínicos en el uso de otros modelos que den como resultado una mejor clasificación.

Una de los principales objetivos del *intelligent core* es la personalización para la detección temprana de la fragilidad. En este sentido, se hace necesario un análisis independiente de cada uno de los tres dominios. Para el dominio cognitivo, actualmente se han realizado 878 tareas GNPT, siendo 13 los usuarios que han completado las tareas GNPT de *screening* que refinan el grado de afectación para cada una de las funciones cognitivas (atención, memoria y funciones ejecutivas). En colaboración con especialistas, se está intentando determinar relaciones entre los cuestionarios QMCI realizados en la fase de *screening* con las tareas GNPT, de manera que podamos incrementar la personalización de tareas cognitivas, planificando aquellas que están diseñadas para entrenar las funciones más afectadas.

También en este sentido, se ha desarrollado una primera versión del *Training Intelligent Recommender*, que en función del *cluster* asignado a cada usuario realizará sugerencias para hacer especial énfasis en el dominio más afectado a nivel global (cognitivo, físico o nutricional). Se han definido una serie de mensajes personalizados que guían al usuario durante el entrenamiento en función de sus características y necesidades particulares, estos mensajes son generados automáticamente mediante procesos que se ejecutan periódicamente y controlan la correcta ejecución y detectan desviaciones en los resultados esperados.

5. Conclusiones y trabajos futuros

En el Proyecto PERSSILAA se pretende definir un nuevo modelo de prestación de servicios con el objetivo de prevenir la fragilidad en personas mayores. En este contexto, la UPM se ha centrado en la definición e implementación de las distintas herramientas y algoritmos que conforman el *intelligent core* de PERSSILAA, proporcionando los distintos métodos computacionales que permitan el descubrimiento de conocimiento, reconocimiento de patrones, clasificación y detección de cambios en los dominios cognitivo, físico y nutricional empleando para ello la información generada por los distintos módulos de la plataforma.

En colaboración con los expertos clínicos que participan en el proyecto se han diseñado e implementado un mecanismo de *clustering* con el objetivo de clasificar a los usuarios en función de los datos obtenidos en la fase *screening*. Todos los datos generados en la plataforma son pre-procesados, estructurados y almacenados en un *data warehouse* con el objetivo de facilitar las consultas y la extracción del conocimiento. Para cada dominio (cognitivo, físico, nutricional) se realiza una clasificación específica de forma que se pueda determinar las

necesidades de cada usuario en cada dominio concreto, proponer un entrenamiento personalizado y seguir su evolución. Además, se han definido una serie de recordatorios y avisos, que se mostrarán a los usuarios cuando entren en la aplicación con el objetivo de ayudar y guiar en la fase de entrenamiento y monitorización, así como suministrar *feedback* sobre su evolución.

Actualmente existen dos pilotos (Países Bajos e Italia) donde la aplicación está siendo utilizada, que están sirviendo para validar las herramientas y algoritmos de ayuda a la decisión implementados. El principal reto con el que nos encontramos es el de conseguir detectar automáticamente las desviaciones que se pueden considerar como un factor de riesgo y actuar en consecuencia. En este sentido, se continúa investigando en el análisis de distintas variables y mejorando los distintos métodos empleados con el objetivo de dotar a la plataforma PERSSILAA de un *intelligent core* eficiente.

Referencias

- [1] World Health Organization. Ageing. Available online: <http://www.who.int/topics/ageing/en/>
- [2] European Innovation Partnership on Active and Healthy Aging. Available online: https://ec.europa.eu/research/innovation-union/pdf/active-healthy-ageing/a3_action_plan.pdf
- [3] Fairhall, N., Langron, C., Sherrington, C., Lord, S. R., Kurrle, S. E., Lockwood, K., ... & Cameron, I. D. (2011). Treating frailty-a practical guide. *BMC medicine*, 9(1), 83.
- [4] Ahmed N, Mandel R, Fain M J. Frailty: An emerging Geriatric syndrome. *American Journal of Medicine* 2007; 120, 748-753.
- [5] Fried LP, Tangen CM, Walston J, Newman AB, Hirsch C, Gottdiener J, Seeman T, Tracy R, Kop WJ, Burke G, McBurnie MA & Cardiovascular Health Study. Frailty in older adults: Evidence for a phenotype. *Journals of Gerontology Series a-Biological Sciences and Medical Sciences* 2001, 56, M146-M156.
- [6] Slaets JPJ. Vulnerability in the elderly: Frailty. *Medical Clinics of North America* 2006, 90, 593- 601.
- [7] Sternberg, S. A., Schwartz, A. W., Karunanathan, S., Bergman, H. & Clarfield, A. M. 2011. The Identification of Frailty: A Systematic Literature Review. *Journal of the American Geriatrics Society*, 59, 2129-2138.
- [8] Robinson TN, Wu DS, Stiegmann GV, Moss M. Frailty predicts increased hospital and six-month healthcare cost following colorectal surgery in older adults. *Am J Surg*. 2011 Nov;2012(5):511-4.
- [9] Solana J., Gárate Barreiro F.J., Hernando Pérez M.E., Gómez Aguilera E.J. PERSSILAA platform: ICT architecture and semantic interoperability for older adults frailty prevention. CASEIB 2015
- [10] Solana, J., Cáceres, C., García-Molina, A., Opisso, E., Roig, T., Tormos, J. M., & Gomez, E. J. (2015). Improving Brain Injury Cognitive Rehabilitation by Personalized Telerehabilitation Services: Guttman Neuropersonal Trainer. *Biomedical and Health Informatics*, IEEE Journal of, 19(1), 124-131.
- [11] Tabak, M., Brusse-Keizer, M., van Ommeren, C., Kotte, H., Weltevreden, P., Hermens, H., & Vollenbroek-Hutten, M. (2013). A telecare programme for self-management of COPD exacerbations and promotion of an active lifestyle. *European Respiratory Journal*, 42(Suppl 57), P4911.
- [12] Nutriageing website, available online: <http://nutriageing.fc.ul.pt/about.html>
- [13] Institute of Electrical and Electronics Engineers. IEEE Standard Computer Dictionary: A Compilation of IEEE Standard Computer Glossaries. New York, NY: 1990.

Metodología para el modelado de Recursos HL7 FHIR mediante arquetipos del estándar ISO13606

J. Camañez Crespo¹, A. Mañas García¹, D. Boscá Tomás¹, M. Robles Viejo¹

¹ Instituto ITACA, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, jorcacre@etsii.upv.es

Resumen

Los estándares de Historia Clínica Electrónica han adquirido especial relevancia en los últimos años. Normas como ISO13606 o HL7 han sido adoptadas progresivamente por parte de centros sanitarios y organizaciones que gestionan información de salud en diferentes países, incrementando las necesidades de interoperabilidad entre ambas normas. Este trabajo presenta una metodología para modelar recursos o modelos clínicos HL7 FHIR mediante arquetipos ISO13606, analizando las diferencias entre los recursos FHIR y los arquetipos equivalentes (i.e. que modelan el/los mismos conceptos clínicos) ya existentes en repositorios de arquetipos. La obtención y publicación de arquetipos ISO13606 equivalentes a recursos FHIR favorecerá la implementación de servicios que lleven a cabo transformaciones de instancias de datos entre ambos estándares (HL7 FHIR y ISO13606), facilitando así la interoperabilidad entre organizaciones que sigan alguna de estas normas para la estandarización de los datos. En este trabajo se va a describir un método de conversión de datos entre dos sistemas de arquitectura de HCE distintos, en concreto del estándar HL7 FHIR a la norma ISO13606.

1. Introducción

A día de hoy nos encontramos en la cuarta revolución, la revolución de la información. Y es que gracias a las nuevas tecnologías se genera una cantidad de datos que muchas veces resulta difícil de manipular, y mucho más difícil obtener de éstos resultados útiles y a la vez eficientes, con el objetivo de convertir toda esta información en conocimiento que permita mejorar y optimizar los servicios sanitarios.

Los hospitales y los centros ambulatorios son los principales sujetos que se encargan de la adquisición de datos. Por lo tanto, deben de ser los primeros que necesitan incorporar cambios en sus sistemas de información. Estos cambios deben asegurar que la adquisición de datos sea estructurada, comprensible y privada, pero al mismo tiempo permitir que esta información sea completamente transferible y funcional entre distintos centros, es decir, que los sistemas de información o sistemas de Historia Clínica Electrónica sean interoperables semánticamente, para lo cual es necesario hacer uso de estándares internacionales de información clínica, como pueden ser ISO 13606 y HL7 FHIR utilizados para este trabajo.

El sistema sanitario español es muy heterogéneo, dado que las competencias sanitarias se atribuyen a cada gobierno autonómico particular y, por tanto, las diferentes comunidades autónomas gestionan la sanidad de forma

independiente. Esta situación acentúa las diferencias entre los sistemas sanitarios del país, influyendo en las tecnologías involucradas en la gestión de HCE de cada autonomía, por lo que es necesaria la implementación de escenarios de interoperabilidad entre sistemas de salud.

Alcanzar la interoperabilidad semántica entre diferentes sistemas de información clínica es un complejo proceso con muchos puntos de vista. Mediante este trabajo se pretende aportar una parte de la solución, presentando una metodología que permita transformar instancias de historias clínicas de pacientes estandarizadas con HL7 FHIR en instancias de Historias clínicas de pacientes estandarizadas según ISO 13606.

2. Estado del arte

El interés por la interoperabilidad entre estándares de historia clínica electrónica no es algo nuevo, ya existen anteriores desarrollos que persiguen establecer puentes entre diferentes normas [1]. En este trabajo se va a abordar también esta cuestión, para la cual se ha propuesto un nuevo método.

Actualmente existen alternativas en el mercado que intentan resolver los problemas relacionados con la interoperabilidad:

Mirth Connect es un motor de integración open source que soporta gran cantidad de protocolos y estándares de información de salud (HL7, XML, DICOM...). Este software permite filtrar, transformar y enrutar mensajes entre dos sistemas aislados y así permitir el intercambio de datos entre ellos [2]. Sin embargo, este software únicamente opera a nivel de mensajería. No presenta funcionalidades que trabajen con modelos clínicos detallados. Además de soluciones opensource, fabricantes como InterSystems, Epic, Atos o Siemens presentan sus soluciones de interoperabilidad, soportando en la mayoría de los casos HL7 v2 pero no arquetipos o modelos clínicos detallados.

Otra entidad que aboga por la interoperabilidad es la Clinical Information Modeling Initiative (CIMI), cuyo objetivo es instaurar un formato común con especificaciones concretas para la representación de la información sanitaria. Persigue que la información semánticamente interoperable pueda ser creada y compartida mediante registros sanitarios, mensajes o documentos [3]. CIMI cuenta con grupos

como el Library Management Board (LMB), librería de modelos de información clínica que cumplen los requisitos de interoperabilidad impuestos por CIMI, o CIMI Modeling Taskforce (MTF), sección dedicada a los detalles técnicos de creación de modelos clínicos. Esta metodología incluye definiciones de los tipos de datos, modelos de referencia, terminologías y patrones para la elaboración de modelos clínicos de información. Su metodología no apuesta por transformaciones directas entre estándares, sino que el modelo CIMI debe estar presente en todas ellas.

3. Objetivos

El principal objetivo de este trabajo es obtener una metodología para el modelado de recursos HL7 FHIR mediante arquetipos ISO13606, de forma que siguiendo estas pautas se generalice el proceso de creación de arquetipos equivalentes a unos recursos dados. El esquema de trabajo seguido se puede observar en la Ilustración 1.

Para desarrollar esta metodología primero se requiere un trabajo previo:

1. Analizar cómo estructuran la información, para trazar paralelismos entre las estructuras de datos empleadas en ambos modelos.
2. Crear arquetipos ISO13606 equivalentes a los recursos de HL7 FHIR a partir de la relación entre tipos de datos obtenida en el paso anterior.



Ilustración 1. Esquema de trabajo

4. Material y método

Este trabajo se desarrolla en base a los estándares de HCE ISO13606 [4] y HL7 FHIR [5]. Ambos definen una arquitectura de información que permite la representación y comunicación de la historia clínica de un paciente. Están orientadas a la comunicación, por lo que no describen los tipos de aplicaciones ni tecnologías empleadas para su implementación.

La ISO13606 forma parte de los llamados modelos duales, compuestos por dos modelos diferentes: arquetipos y modelos de referencia. El modelo de referencia define un conjunto de componentes, con relaciones jerárquicas entre ellos. En ISO13606 las clases principales del modelo de referencia son: Folder, Composition, Section, Entry, Cluster, y Element. Mediante la combinación de estos se pueda representar cualquier concepto en una historia clínica documentable. Un arquetipo es una definición formal de un concepto clínico basado en el modelo de referencia, que sirve para documentar cualquier aspecto relacionado con la salud de las personas.

Por su parte, HL7 FHIR es un estándar emergente desarrollado por HL7, que ha suscitado un interés creciente desde su publicación [6], debido a que presenta ciertas ventajas frente a sus predecesores y se caracteriza por definir entidades conceptuales de información sanitaria denominadas ‘recursos’. Son representaciones de conceptos del mundo sanitario: paciente, médico, problema de salud, observación, etc.

El objetivo, por tanto, es desarrollar un método de modelado de arquetipos equivalentes a cada uno de estos recursos. Para ello se han analizado las estructuras de datos de cada una de estas dos normas, estableciendo correspondencias entre ambas y eliminando las ambigüedades en el proceso de modelado.

Se analizaron los tipos de datos de ambos estándares siguiendo una estrategia bottom-up para evaluar su grado de compatibilidad. Los tipos de datos básicos (booleanos, cadenas de caracteres, números enteros, uri, etc) coexisten en ambos estándares, lo que permite establecer una equivalencia directa. HL7 FHIR posee además otros tipos de datos más complejos (e. g. Human Name, Address, ContactPoint, SampledData). Si bien ISO13606 no posee estos tipos de datos directamente, posee clases similares en el modelo demográfico. Sin embargo, actualmente no es factible crear arquetipos basados en clases del modelo demográfico. En este trabajo las equivalencias a tipos de datos complejos se modelaron mediante arquetipos equivalentes de menor tamaño, que podrán ser incluidos en arquetipos más extensos mediante Slots. La ilustración 2 muestra un ejemplo de este modelado para el tipo de dato HumanName de HL7 FHIR.

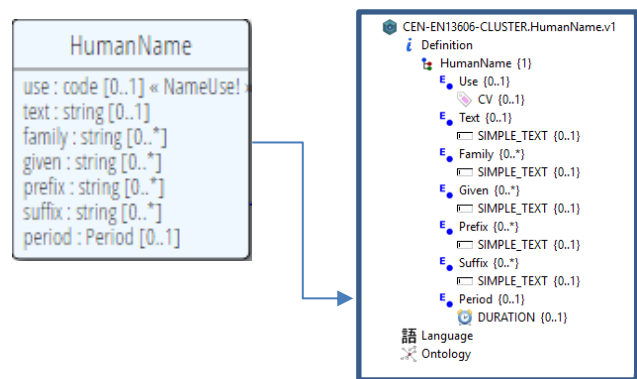


Ilustración 2. Conversión tipo complejo. Dato complejo de HL7 FHIR modelado como un Cluster ISO13606

En la tabla 1 podemos observar algunas de las equivalencias obtenidas. Aunque algunas pudieran ser directas, normalmente los recursos presentan un volumen mayor de información que se perdería al transformarse a tipos de datos simple de ISO13606, por lo que es conveniente crear nuevos arquetipos para evitar que ocurra esto.

Se debe prestar especial atención al tipo de dato simple Code en HL7 FHIR. Además de códigos con referencias externas (LOINC, SNOMED, etc.), este estándar presenta sus propias codificaciones, que varían en función del elemento del recurso. Normalmente son codificaciones

cerradas y limitadas, donde solo se pueden adoptar una serie prefijada de vocablos. En cambio, la ISO13606 en sus tipos de datos, presentan gran número de opciones en cuanto a codificación se refiere. De todas ellas se han seleccionado únicamente dos para representar los códigos de HL7 FHIR:

- CV: datos codificados, que especifican sólo un código, sin ningún otro calificador o correspondencia a otros conjuntos de códigos. Este tipo se ha empleado para introducir todas las codificaciones propias de esta norma. Se han introducido de forma manual para cada código los diferentes valores posibles.
- CE: codificado con equivalencias. Datos codificados que consisten en un código y opcionalmente uno o más códigos de otros sistemas de codificación. Este se ha empleado cuando los códigos presentan equivalencias con otros como LOINC u otras versiones de HL7.

Tipo de dato	HL7 FHIR	ISO13606
Cadenas	String	Simple_Text
Periodos	Period	Duration
Multimedia	Attachment*	ED
Identificador	OID	URI
Cantidad física	Quantity*	PQ
Enteros	Integer	INT
Reales	Decimal	REAL
Tiempos	Time	TS
Ratios	Ratio*	RTO

Tabla 1. Equivalencias de tipos de datos. (*Tipos complejos en HL7 FHIR)

Una vez establecidas las correspondencias entre los tipos de datos de ambos estándares, es posible modelar arquetipos ISO13606 equivalentes a recursos HL7 FHIR. En este trabajo, se modelan los arquetipos ISO13606 de aquellos recursos HL7 FHIR que presentan una madurez mayor. Esto significa que, a mayor nivel de maduración, mayor ha sido el uso en implementaciones, y por lo tanto mayor aceptación y revisiones han sufrido. Dentro de toda la batería de recursos disponibles [7], los que tiene un grado mayor de madurez son: Observation, DiagnosticReport y Patient.

Por último, queda modelar estos recursos desde cero utilizando los diferentes componentes del modelo de referencia. Cada recurso está formado por conjuntos de información de diferente naturaleza. Si esta información está compuesta por un solo dato, suele modelizarse dentro del arquetipo como un Element. En cambio, si presenta más de un dato, se integrará como un Cluster. Dentro de los recursos, además de datos también aparecen referencias a otros recursos, punteros que nos llevan a

otros conceptos o actores relacionados con el mismo. Este tipo de punteros se modelan como Slots en el arquetipo. Esto ayuda a no tener demasiada información inicialmente y así poder seleccionarla a medida que se vaya precisando. Hay que prestar especial atención al hecho de que los arquetipos que corresponden con cada Slot deben respetar las normas de jerarquía de los componentes del modelo de referencia ISO13606. Una vez modelados serán arquetipos anidados, por lo que no pueden incumplir las restricciones de clases que impone el modelo de referencia de la norma ISO13606.

El modelado se ha realizado con LinkEHR [8], una plataforma software para la modelización, normalización e interoperabilidad semántica de información sanitaria.

5. Resultados

Después de analizar ambos estándares, se ha visto que su forma de estructurar la información es similar, por lo que las transformaciones son viables y se obtienen resultados óptimos. Tras el análisis de estas transformaciones se ha obtenido una metodología para modelar recursos HL7 FHIR mediante arquetipos ISO13606.

Aplicando la metodología descrita, se han obtenido arquetipos ISO13606 equivalentes a los recursos de HL7 FHIR en cuanto al contenido, la forma y distribución de la información. Se pueden dividir en dos grupos diferentes, los arquetipos equivalentes a los tipos de datos complejos, modelados como Clusters: Adress, ContactPoint, HumanName, SampledData y Quantity; y los arquetipos que modelan recursos completos: como un Cluster el recurso Patient, y como Entrys los recursos Observation y DiagnosticReport.

Las codificaciones propias que presenta HL7 se han introducido manualmente como códigos propios de la ISO13606, respetando las jerarquías de componentes de cada arquetipo y las diferencias entre los tipos de datos de cada norma.

A continuación, se expone, como ejemplo, el modelado del recurso DiagnosticReport. En primer lugar, se analiza qué clase es la óptima para este recurso: la elección depende de si se puede entender como un informe, una sección del historial sanitario, un registro de datos, etc, acorde a la definición de cada componente del modelo de referencia ISO13606. En este caso se trata de un Informe Diagnóstico (DiagnosticReport) por lo que el componente más apropiado es Entry (Ilustración 3). A continuación, de acuerdo con la jerarquía del modelo de referencia ISO13606, se identifican el resto de componentes a utilizar en el modelado. En este caso se emplean los elementos del modelo de nivel inferior a Entry: Cluster y Element. El próximo paso es analizar cada una de las partes del recurso para ver qué tipo de dato es el más adecuado, en este punto es útil consultar las equivalencias entre los tipos de datos de ambas normas (Tabla 1). En caso de que sea complejo o un conjunto extenso de datos, se debe tomar también la decisión de si el nuevo tipo/bloque va a ser reutilizado en otros recursos. En cuyo caso será añadido como un Slot y modelado a parte como un nuevo arquetipo.

Analizando el recurso a los niveles más bajos de la jerarquía, se identifica que Category y Code son dos tipos de códigos de distinta naturaleza, por lo cual no presentan el mismo tipo de dato. El primero se trata de un código propio de la norma de manera que se modela como un CV. El segundo al presentar equivalencias con otros códigos se modela como un CE. Ambos tipos, junto con Conclusion e Issued, se han modelado como Elements ya que únicamente contienen un componente. Este elemento siempre será considerado de tipo simple (e.g. SimpleText en Conclusion). Si el modelo contiene más de un componente, se modela como Cluster (e.g. Effective). En cualquiera de los casos los componentes del modelo que deban ser reutilizados se considerarán como Slots.

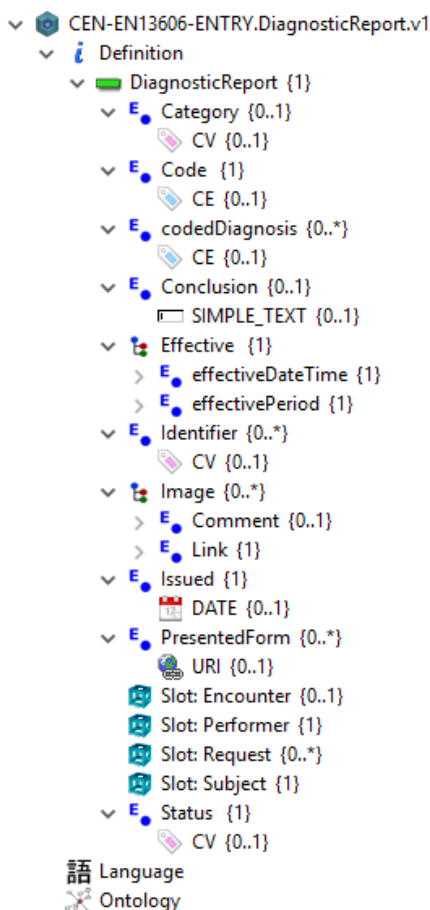


Ilustración 3. Arquetipo de recurso DiagnosticReport

6. Conclusión

Tras el desarrollo de este trabajo se ha obtenido como resultado una metodología que permite modelar recursos FHIR mediante arquetipos ISO13606. Siguiendo los pasos aquí descritos, es posible modelar cualquier recurso HL7 FHIR con arquetipos ISO13606. Se han tenido que resolver ciertas diferencias entre ambos modelos, como la disparidad en los tipos de datos, las formas de estructurar la información, o las codificaciones empleadas por cada estándar.

Previamente al desarrollo de dicha metodología, se ha llevado a cabo el estudio y comparativa de ambos estándares. De dicho análisis se puede concluir que tanto un estándar como el otro presentan una estructura similar,

ya que el objetivo de ambos al fin y al cabo es el mismo, presentar de forma clara y organizada la información sanitaria.

Por lo tanto, se ha conseguido modelar los recursos de HL7 FHIR con arquetipos de la ISO 13606. Esta transformación presenta un valor añadido debido a que se lleva a cabo entre dos de los estándares más utilizados actualmente debido a todas las organizaciones y entidades que los respaldan. Este hecho representa un gran avance en cuanto a interoperabilidad semántica se refiere ya que permite aunar dos normas importantes, de manera que todos los centros sanitarios que trabajen con ellas puedan comunicarse de forma óptima y eficiente.

7. Trabajo futuro

El objetivo final es el desarrollo de un servicio de transformación de instancias entre ambos estándares basado en la metodología expuesta en este artículo. Dicho servicio debe ser capaz de convertir instancias de HL7 FHIR en instancias de la ISO 13606 de forma automática mediante el apoyo de herramientas software de mapping como LinkEHR.

También se pretende que estas transformaciones sean bidireccionales, es decir, convertir instancias basadas en arquetipos ISO 13606 a instancias basadas en recursos HL7 FHIR. Para lo cual será necesario diseñar los perfiles FHIR asociados a los recursos correspondientes.

8. Referencias

- [1] R. González Couto, L. Alonso Nevado, et al. Diseño de una pasarela HL7/EN 13606 para el intercambio de información de Telemonitorización domiciliar de pacientes. *XXIV Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*, Pamplona 2006 (ISBN: 84-9769-160-1)
- [2] Página web de Mirth Connect, 3.4 User Guide. <https://bridge.nextgen.com/media/3244/mirth-data-sheet-mirth-connect-3-4-user-guide.pdf> (Consultada: Septiembre 2016)
- [3] Página web de Clinical Information Modeling Initiative (CIMI). http://www.opencimi.org/about_cimi (Consultada: Septiembre 2016)
- [4] Descripción y uso de la norma UNE-EN 13606: <http://www.hcdsnsformacion.es> (Consultada: Agosto 2016)
- [5] Página web: Health Level Seven FHIR: <http://hl7.org/fhir.html> (Consultada: Agosto 2016)
- [6] M. Boluda Terol, D. Ruiz Fernandez, Implementación del estándar HL7 FHIR en un sistema de monitorización de oxígeno de bajo coste. *XXXIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*, Madrid 2015 (ISBN: 978-84-608-3354-3)
- [7] Página web: Recursos del estándar HL7 FHIR y sus grados de madurez: <https://www.hl7.org/fhir/resource.html> (Consultada: Agosto 2016)
- [8] Página web de LinkEHR: <http://www.linkehr.com/> (Consultada en septiembre de 2016)

Ventajas del uso de las herramientas de mallado en MCNP6: Tres estudios de casos médicos

S. Morató¹, B. Juste¹, R. Miró¹, G. Verdú¹

¹ ISIRYM, Instituto de Seguridad Industrial Radiofísica y Medioambiental. Universitat Politècnica de València.

Camí de Vera s/n 46022, smorato@iqn.upv.es

Resumen

Este trabajo presenta la aplicación de geometrías de mallas no estructuradas a cálculos con simulaciones con el código Monte Carlo MCNP6.1.1 con las considerables ventajas que esto presenta, mayor velocidad de cálculo, mayor precisión en los diseños geométricos y facilidad a la hora de elaborar geometrías complejas como estructuras anatómicas.

En particular el trabajo presenta tres casos de estudio en los que se han utilizado geometrías malladas en simulaciones Monte Carlo con MCNP6.1.1, estos son: reconstrucción de espectros de fotones emitidos por aceleradores lineales médicos, cálculo de la generación de neutrones y por tanto de la actividad inducida por estos, y cálculos de distribuciones de dosis que cabría la posibilidad que en un futuro pudieran ser usados para realizar planificaciones de tratamientos radioterapéuticos basados en métodos Monte Carlo.

Cada uno de los estudios presentados fueron validados gracias a medidas experimentales, obteniendo buenos resultados en la comparación con los datos obtenidos por simulación Monte Carlo.

1. Introducción

El uso de la simulación de Monte Carlo para planificación de radioterapia puede proporcionar dosis más precisas cuando se compara con los métodos deterministas que normalmente se encuentran en los sistemas de planificación del tratamiento, especialmente en regiones heterogéneas. Se pueden lograr resultados más precisos mediante simulación Monte Carlo, sin embargo, a menudo requieren de un tiempo de cálculo elevado para alcanzar una alta precisión, lo que reduce su utilidad en aplicaciones médicas.

Este trabajo tiene como objetivo mejorar la utilidad de la simulación Monte Carlo en el entorno clínico desarrollando técnicas que permitan la simulación Monte Carlo de geometrías de radioterapia de forma más rápida y precisa. La mejora de la simulación Monte Carlo se consigue principalmente a través del uso de nuevas herramientas informáticas de alto rendimiento. El código Monte Carlo de transporte de partículas (MCNP6) desarrollado en *Los Alamos National Laboratory*, se ha ampliado para incluir una nueva capacidad que permite el seguimiento de las partículas en una malla no estructurada que se incrusta como un universo de malla dentro de su capacidad geometría sólida constructiva.

Los resultados de transporte con MCNP6.1.1 se calculan con registros de malla (*tally*) utilizando un

estimador de la longitud del trayecto en cada elemento de malla. Los resultados de MCNP6.1.1 se pueden exportar a *ParaView* para la visualización u otro análisis de la física [1], [2].

Se ha simulado un acelerador lineal Varian CLinAc (disponible en el *Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia*) con un potencial de aceleración nominal de 6 y 15 MV, equipado con un colimador multiláminas dinámico (MLC) de alta definición con un total de 120 láminas. La malla geométrica del LinAc se crea mediante *Abaqus / CAE* utilizando el modelo sólido exportado desde cualquier software CAD como puede ser *Space Claim* o *SolidWorks* (Figura 1).

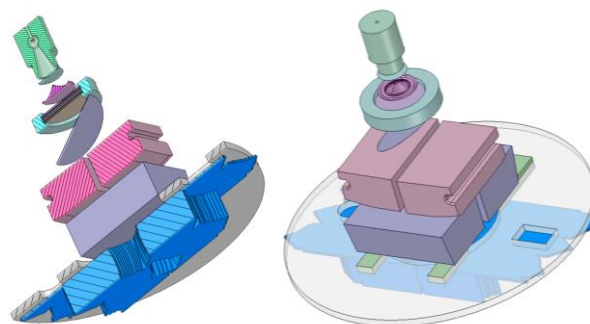


Figura 1. Modelo CAD del cabezal del acelerador lineal médico Varian CLinAc

Este modelo se define en detalle según especificaciones del fabricante y se ha utilizado posteriormente en varias aplicaciones con intereses médicos; como son la reconstrucción del espectro, el estudio de la generación de fotoneutrones y la actividad inducida, y por último el análisis de Monte Carlo como herramienta de planificación del tratamiento.

2. Simulaciones Monte Carlo, MCNP6

2.1. Reconstrucción de Espectros

El espectro de energía es la mejor función descriptiva para determinar la calidad del haz de fotones de un Acelerador Lineal Médico (LinAc). El uso de espectros de fotones realistas en simulaciones de Monte Carlo tiene una gran importancia para obtener cálculos de dosis precisos en la planificación del tratamiento de radioterapia (RTP).

El problema de reconstrucción es una función de transporte de radiación inversa que está mal condicionada y su solución puede llegar a ser inestable debido a las pequeñas perturbaciones en los datos de entrada. Hemos desarrollado un método de reconstrucción espectral estable que puede ser utilizado para proporcionar una confirmación independiente de los modelos de fuentes para una máquina dada sin ningún conocimiento previo de la distribución espectral. La metodología se basa en la ecuación de primer orden *Fredholm* que relaciona la deposición de energía a diferentes profundidades de fotones en la cuba de agua, el espectro de energía incidente y una matriz de respuesta obtenida por simulación que contiene curvas de dosis en profundidad para diferentes haces consecutivos mono-energéticos [3].

El espectro de fotones reconstruido obtenido mediante este método para haces de 6 MeV se muestra en la Figura 2.

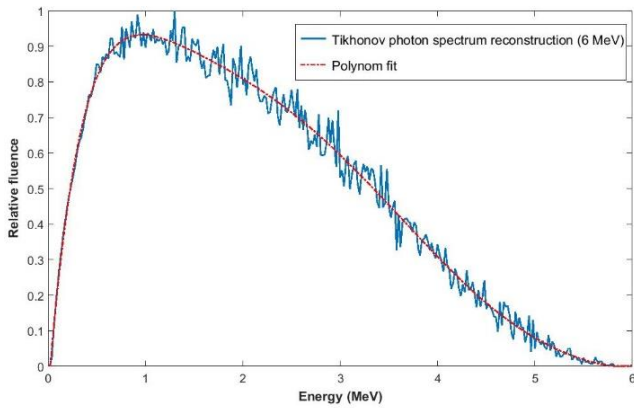


Figura 2. Espectro reconstruido de 6 MeV

Tras la reconstrucción del espectro, este se ha utilizado como fuente de radiación en la simulación con MCNP6.1.1 del modelo Monte Carlo del cabezal del acelerador lineal médico junto con una cuba de agua, en la Figura 3 podemos visualizar los resultados de la distribución de dosis en 3D de esta simulación, así como las curvas de isodosis en la cuba de agua.

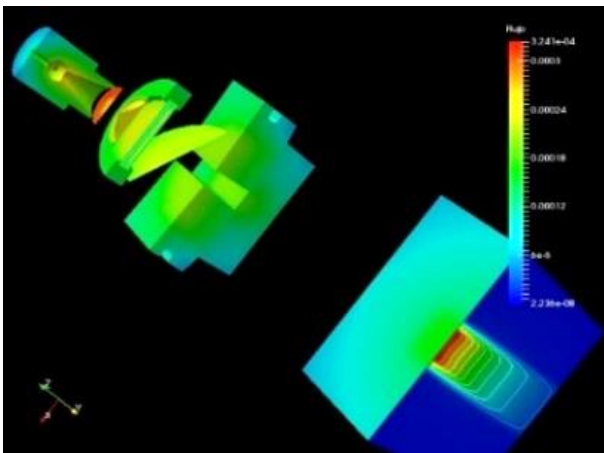


Figura 3. Visualización de los resultados de MCNP6 con el software ParaView

Las curvas de dosis en profundidad en esta cuba de agua han sido comparadas con las curvas obtenidas experimentalmente en el *Hospital Universitari i Politènic la Fe de València*, obteniendo un buen ajuste entre ellas y por tanto ha servido de validación del espectro reconstruido. Esta comparación se presenta en la Figura 4.

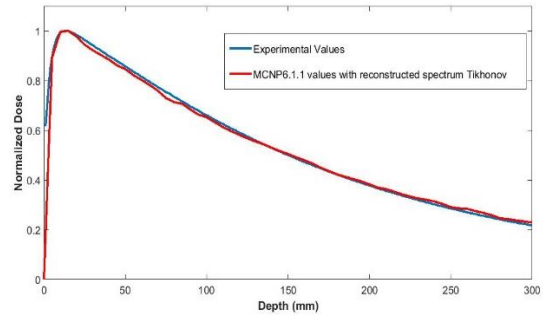


Figura 4. Curva de dosis en profundidad obtenida por simulación del espectro de 6 MeV y curva experimental.

2.2. Estudio de la generación de fotoneutrones y actividad inducida

Los Aceleradores lineales Médicos (LinAc) que emiten haces de fotones con energías entre 10 y 15 MeV son de uso común debido a que producen dosis en piel bajas, entregado una dosis más alta en profundidad y una reducida dosis dispersa en los tejidos sanos circundantes. Sin embargo, estos haces de alta energía son capaces de generar fotoneutrones debido a reacciones fotonucleares que se producen en componentes del cabezal del LinAc en materiales de alto número atómico. Posteriormente los neutrones creados en estos procesos experimentan reacciones (n, γ) creando productos de activación en una amplia zona. La Figura 5 presenta los resultados de la simulación de la activación con el código MCNP6.1.1 [4].

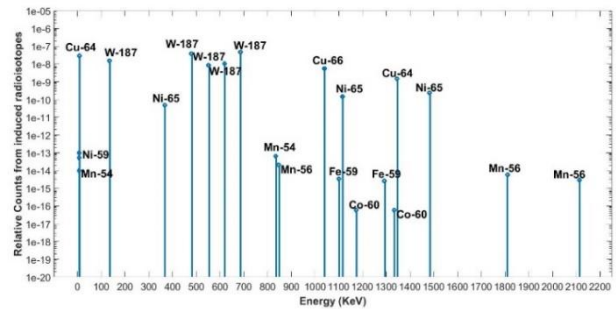


Figura 5. Productos de Activación generados en el cabezal del LinAc y calculados por simulación Monte Carlo

Para comparar los resultados obtenidos en la simulación con medidas experimentales, el estudio se centró en el radioisótopo ^{187}W . La Figura 6 muestra la comparación de los picos de ^{187}W simulados y los medidos en el *Hospital Clínico de Valencia*.

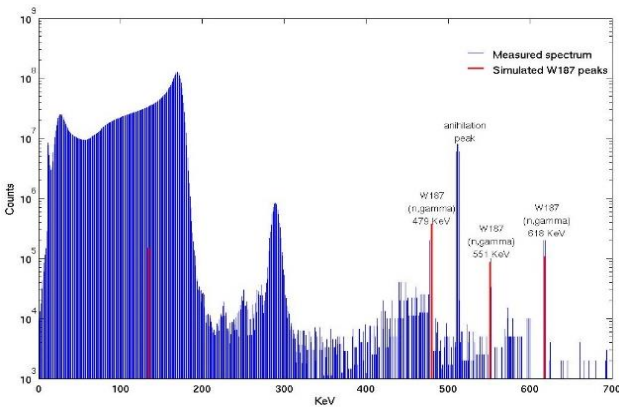


Figura 6. Comparación de los picos experimentales y simulados del ^{187}W .

La figura 7 presenta los picos de ^{187}W clasificados por la parte del cabezal del acelerador donde son generados. Se puede observar que la mayor parte se generan en el blanco. El colimador primario y el disco aplanador son también importantes fuentes de radiactividad inducida (aunque son varios cientos de veces menor que en el blanco).

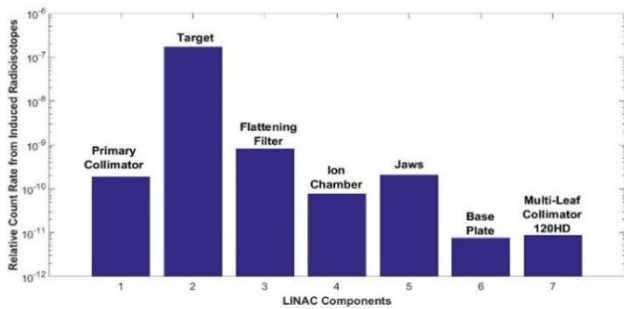


Figura 7. Cuantificación de la reacción $^{186}\text{W}(n, \gamma)^{187}\text{W}$ en los componentes del cabezal del LinAc.

2.3. Herramienta de Planificación de Tratamiento

Se ha generado un modelo 3D de un maniquí antropomórfico con MCNP6.1.1 mediante herramientas de mallado con *Abaqus/CAE* a partir de una segmentación de las imágenes CT para simular un tratamiento durante la irradiación de un LinAc y obtener las curvas de dosis en su interior [5].

Tras la simulación con MCNP6.1.1 y diferentes herramientas de post-procesado de los datos obtenemos una visualización totalmente tridimensional de la dosis que hace posible un rápido acceso a los datos de dosis en cualquier punto de nuestra geometría de estudio.

En la figura 8 se visualiza mediante el software *ParaView* la distribución de dosis absorbida en el maniquí antropomórfico utilizado también en medidas experimentales.

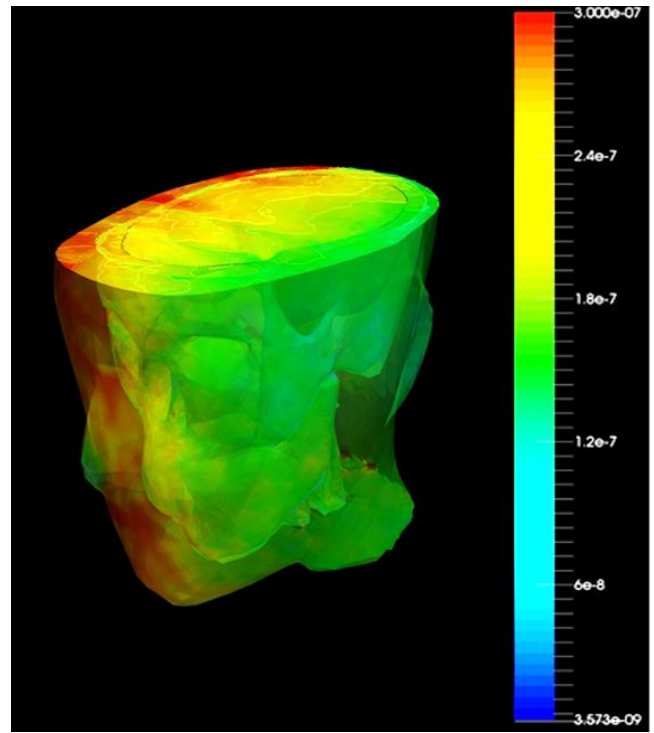


Figura 8. Visualización de la distribución de dosis en la cabeza del maniquí.

Estos resultados de dosis fueron comparados con medidas experimentales tomadas en 20 cavidades o puntos diferentes del maniquí obteniéndose un error relativo medio del 2%.

3. Conclusiones

Este trabajo presenta las ventajas (tiempo de cálculo y precisión) de la utilización de herramientas de mallado MCNP6 en estos tres casos de estudio del acelerador lineal médico. Los tres casos han sido validados a través de medidas experimentales obteniendo un buen ajuste con los resultados de Monte Carlo. El tiempo de cálculo obtenido es aproximadamente tres veces más rápido utilizando modelos de malla en comparación con los resultados obtenidos utilizando los modelos tradicionales basados en celdas.

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer la colaboración del *Hospital Clínico Universitario de Valencia* y del *Hospital Universitari i Politècnic La Fe de València*.

Referencias

- [1] Roger L. Martz, "The MCNP6 Book On Unstructured Mesh Geometry: User's Guide", LA-UR- 11-05668 Rev. 8, MCNP6 code release to RSICC, Oak Ridge, TN and general distribution.
- [2] Monte Carlo team, "MCNP6TM – User's manual, Version 6.1.1beta", Los Alamos National Laboratory, LA-CP-14-00745, Rev. 0, June 2014.

- [3] B. Juste, R. Miró, G. Verdú, S. Díez, J.M. Campayo. “6 and 15 MEV photon spectra reconstruction using an unfolding dose gradient methodology”. Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology. pp. 129 - 132. 2011.
- [4] B. Juste, S. Morató, R. Miró, G. Verdú, S. Díez. “MCNP6 unstructured mesh application to estimate the photoneutron distribution and induced activity inside a linac bunker”, Radiation Physics and Chemistry, March 2016.
- [5] B. Juste, R. Miró, V. Abella, G. Verdú, A. Santos. “Use of MOSFET dosimeters to validate Monte Carlo radiation treatment calculation in an anthropomorphic phantom”. Radiation Physics and Chemistry. Volume 116, November 2015, Pages 208–213.

Biomateriales

Miércoles 23 de Noviembre

Microfluidic platform for dynamic *in vitro* optimization of methotrexate-loaded lipid nanoparticle delivery for personalized osteosarcoma treatment

O. Mitxelena Iribarren^{1,2}, C. L. Hisey^{1,3}, Y. González-Fernández^{2,4,5}, E. Imbuluzqueta^{2,4,5}, M. Mujika^{1,2}, MJ. Blanco-Prieto^{2,4,5}, S. Arana^{1,2}

¹ CEIT and Tecnun, University of Navarra, San Sebastián, Spain, {omixelena, clhisey, mmujika, sarana}@ceit.es

² Centro de Ingeniería Biomédica, University of Navarra, Pamplona, Spain

³ Biomedical Engineering Department, The Ohio State University, Columbus, Ohio, USA, hisey.12@osu.edu

⁴ Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, School of Pharmacy, University of Navarra, Spain, {mjblanco, imbuluzqueta}@unav.es; ygonzalez.1@alumni.unav.es

⁵ Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra, IdiSNA, Pamplona, Spain

Abstract

Cancer is a leading cause of mortality in the world, with osteosarcoma being one of the most common types among children between 1 and 14 years old. The use of lipid nanoparticles as biodegradable shells for controlled drug delivery shows promise as a more effective and targeted tumor treatment. However, current techniques for in vitro testing of these vehicles have shown little validity due to their static nature, in which nanoparticles sediment onto the bottom of the wells and kill the cells via asphyxiation, hiding the real effect achieved by the nanoparticles. In this work, a microfluidic platform capable of determining the optimum dose of methotrexate-loaded lipid nanoparticles in osteosarcoma treatment is presented as a promising alternative to current nanoparticle characterization assays.

1. Introduction

According to the World Health Organization, cancer is one of the main mortality causes all over the world. Recent studies estimate that the number of people diagnosed with cancer will increase up to more than 13 million deaths in 2030 and by the year 2050, 27 million new cancer cases will be diagnosed, among which 17.5 million will die [1]. Osteosarcoma, an uncontrolled growth of malignant cells produced in immature bone tissue, is one of the most common types of cancer among 1 to 14 year-old children [2]. Although today the disease is cured approximately in 65-70% of the cases when the tumor is localized exclusively in the bone, the surviving percentage in those patients who have had metastasis is extremely low [3]. The current treatment for osteosarcoma patients is based on preoperative chemotherapy, surgery and postoperative chemotherapy [4]. However, their limitations have made the development of alternative treatment modalities necessary. Those treatments should offer an efficient and targeted therapy to avoid all the adverse side-effects.

The use of lipid nanoparticles for controlled drug delivery shows promise as a more effective and targeted tumor

treatment [5, 6]. However, current *in vitro* studies performed with nanoparticles and cells are carried out in well-plates under static conditions, which involve a series of problems, such as the sedimentation of particles causing cellular death via asphyxiation. This sedimentation hides the real effect of the nanoparticles and, therefore, their true cytotoxicity cannot be determined.

In order to overcome the problems found in traditional techniques, recently the use of microtechnologies in the biomedical field, and more specifically microfluidics, has shown to be of great utility in the development of alternative technologies for dynamic biomedical applications [7-14]. The use of polymeric substrates presents an effective solution for the fabrication of microfluidic platforms that allow cell culture and incubation under highly controlled dynamic conditions. These devices offer new alternatives for the *in vitro* characterization of the effect of the nanoparticles, since they allow a significant reduction of reagents and the possibility to modify cell environment in a controlled way [15].

Considering all the above mentioned facts, the effect of these lipid nanoparticles has been analyzed with a newly developed microfluidic platform. The design was previously optimized to allow an appropriate cell culture under dynamic conditions [16] and the utility of it in cancer treatment characterization improvement has been demonstrated. The objective of this work is to validate the capability of the microfluidic platform to determine the optimum dose of methotrexate-loaded lipid nanoparticles in osteosarcoma treatment, what makes it a promising alternative to current nanoparticle characterization assays.

2. Materials and methods

2.1 Fabrication of the microfluidic device

Microfluidic devices have been fabricated in Polydimethylsiloxane (PDMS, Silastic T4, Dow Corning)

by replica-molding techniques using molds fabricated by conventional UV photolithography on 4" silicon wafers with SU-8 100 photoresist, as previously described [16].

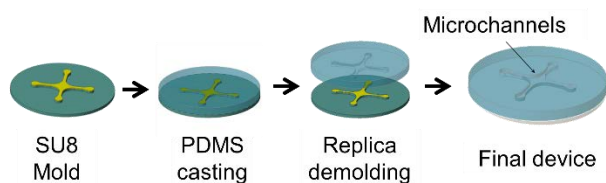


Figure 1. Microfluidic device fabrication process

2.2 Reagents for cell culture, methotrexate and methotrexate-lipid nanoparticle preparation

U-2 OS (ECACC 92022711, ATCC HTB-96) osteosarcoma cell line has been used in this study. Cells have been cultured using RPMI 1640 with Ultraglutamine 1 (RPMI 1640 with U1, Life Technologies, UK) supplemented with 10%(v/v) fetal bovine serum (FBS, Life Technologies, UK) and 1% of PenStrep (Gibco®, UK) at 37°C in a humidified 5% CO₂ atmosphere. For subculturing, cells have been washed with PBS, trypsinized with 0.5% trypsin-EDTA 1X (Gibco®, UK) and, once mixed with supplemented medium, centrifuged at 1500 rpm for 5 minutes. After this procedure, cells have been used for subculturing (performed three times a week) or seeded in the microfluidic devices for the experimental procedures.

Free methotrexate (kindly provided by Dr. A. Aldaz, from the Department of Pharmacy of Clínica Universidad de Navarra, Spain) and methotrexate-lipid nanoparticles (previously described by González-Fernández et.al [5]) have been conveniently dissolved in RPMI 1640.

2.3 Experimental set-ups and procedures

Using the optimized device (Figure 2) the effects of the recirculation of cell media, free methotrexate and lipid nanoparticles containing methotrexate on the viability of U-2 OS osteosarcoma cells have been quantified.

To achieve this, cell insertion in the microfluidic chambers at a concentration of $7 \cdot 10^4$ cells/ μ l has been performed using an in-line injection port (ibidi) and Tygon MHSL2001 tubes (ID=0.38mm). Cells have been allowed to adhere to the bottom of the 10mm² chamber. Then the cell monolayer has been subjected to different treatments in a set-up including a transmission Nikon Eclipse Ti microscope with a high resolution monochromatic Hamamatsu camera, a color Nikon camera and a specific stage which allows the control of temperature and environmental conditions. Recirculation of media, free methotrexate and methotrexate-lipid nanoparticles in different concentrations has been performed with the use of an IPC peristaltic pump (ISMATEC SA) under a 2.15 μ l/min flow. Taking into account the IC₅₀ obtained for free methotrexate (15mM) and the lipid nanoparticles (11 μ M) [5] in static assays and in order to identify the optimum drug dose, three different drug concentrations have been tested: 15 μ M, 150 μ M and 1.5mM.

3. Results and discussion

In order to assess the capability of the microfluidic platform to optimize the cytotoxic effect of drug-loaded nanoparticles, cells have undergone different treatments. All cell assays have consisted in four steps: (i) cell insertion, (ii) cell adhesion under static conditions for 24 hours, (iii) cell proliferation under corresponding dynamic treatment, and (iv) evaluation of cytotoxic effect during 72 hours.



Figure 2. Optimized final microfluidic device

Cells have been first subjected to regular cell media circulation. These assays intend to prove that cells can withstand damage caused by the shear stress of continuous flow. As previously reported by this group [17] cells proliferate in their expected ratio during the 72 hours period, demonstrating that the shear stress induced by the low circulation rate of 2.15 μ l/min has nearly no damaging effect in the cells (Figure 3).

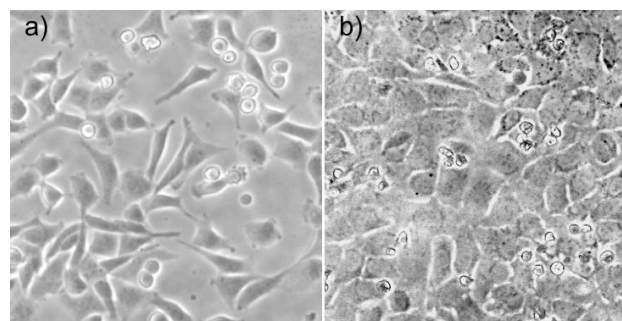


Figure 3. Cells under media recirculation at a) $t=0$ hours and b) $t=72$ hours

Once the influence of the flow rate was proven to be negligible, assays for the quantification of the effect of methotrexate in osteosarcoma cells have been performed. Thus cells have been subjected to both circulating free and encapsulated methotrexate in order to assess the effectiveness of methotrexate-lipid nanoparticles.

Cells under free methotrexate recirculation have also kept proliferating in similar way as they have done under circulating media during the first 24 hours. However, in the case of the 1.5mM concentration solution, at this point cells have started to die because of the cytotoxic effect of the drug (Figure 4).

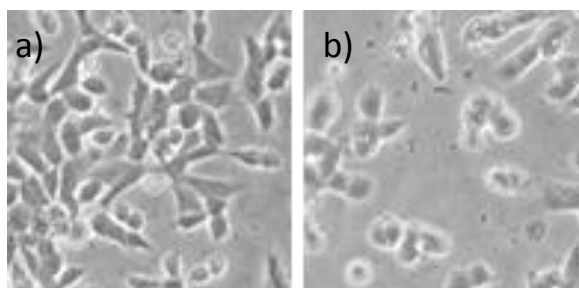


Figure 4. Cell viability under 1.5mM free methotrexate recirculation. Cell monolayer at a) $t=0$ and b) after $t= 24$ hours

On the other hand, under lower methotrexate concentrations ($15\mu\text{M}$ and $150\mu\text{M}$), cells have shown no sign of death until up to 40 hours (Figure 5).

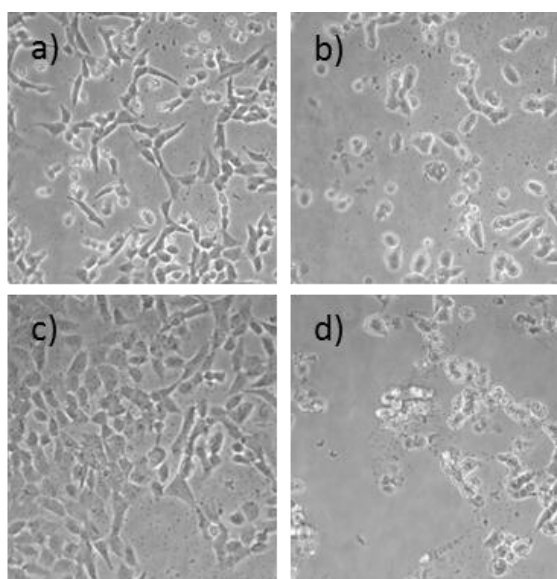


Figure 5. Cell viability under $15\mu\text{M}$ free methotrexate recirculation at a) $t=0$ and b) after $t= 48$ hours. Cell viability under $150\mu\text{M}$ free methotrexate recirculation c) at $t=0$ and d) after $t= 48$ hours

Finally, behavior of the cells under the circulation of methotrexate-lipid nanoparticles has been analysed. First of all, no nanoparticle sedimentation has been observed during the 72 hours of each study. Thus, as opposed to the results obtained with static traditional *in vitro* assays, with the use of the proposed microfluidic platform for dynamic cell analysis the real effect that these nanovehicles have over the cells has been observed (Figure 6).

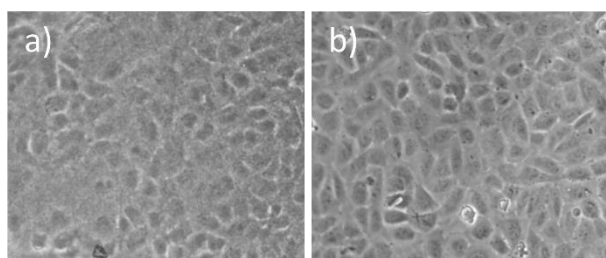


Figure 6. Cells under a) sedimented nanoparticles and b) circulating methotrexate-lipid nanoparticles. The image is blurrier in the case of the sedimentation.

Therefore, the results obtained indicate that for the same drug concentration the IC_{50} for the nanoparticles is below that of free methotrexate. With the use of the proposed microfluidic platform for dynamic cell analysis it has been demonstrated that among the considered treatments, encapsulated methotrexate is the one with the highest efficacy in an osteosarcoma cell line.

4. Conclusions

Nanoparticle efficacy compared to free drug efficacy has been demonstrated, and in experiments under the same drug concentration, nanoparticles have shown to kill a higher amount of cells in shorter time.

This demonstrates not only the effectiveness of the proposed nanovehicles, but also the effectiveness of the presented platform to dynamically analyze nanoparticles in the research of new cancer treatments, as the dynamics of the platform reflect *in vivo* conditions better than the static well plates. Thus, the use of this platform will lead in the search of a personalized cancer treatment with nanoparticles.

Acknowledgements

Finally, authors would like to thank the Center of Biomedical Engineering of the University of Navarra and the Spanish Association against Cancer (AECC) for giving the financial support to accomplish this work. Also, the PREDOC program of the Basque Government for financing Oihane Mitxelena's PhD studies is acknowledged.

References

- [1] Página web de la Asociación Española Contra el Cáncer (AECC). <https://www.aecc.es> (Consultada: Agosto 2016).
- [2] Peris-Bonet R, Salmeron D, Martinez-Beneito MA, Galceran J, Marcos-Gragera R, Felipe S, Gonzalez V, Sanchez de Toledo Codina J, Childhood cancer incidence and survival in Spain., *Ann. Oncol.* 21 Suppl 3, 2010, 103–110.
- [3] Jaffe N, Osteosarcoma: review of the past, impact on the future. The American experience., *Cancer Treat. Res.* 152, 2009, 239–262.
- [4] Majó J, Cubedo R, Pardo N, Tratamiento del osteosarcoma. Revisión, *Rev. Esp. Cir. Ortop. Traumatol.* 54, 2010, 329–336.
- [5] González-Fernández Y, Zalacain M, Imbuluzqueta E, Sierrasesumaga L, Patiño-García A, Blanco-Prieto MJ, Lipid nanoparticles enhance the efficacy of chemotherapy in primary and metastatic human osteosarcoma cells?. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 30, 2015
- [6] Lasa-Saracibar B, Estella-Hermoso de Mendoza A, Guada M, Dios-Vieitez C, & Blanco-Prieto MJ, Lipid nanoparticles for cancer therapy: state of the art and future prospects, *Expert Opin Drug Deliv* 9, 2012, 1245-126.
- [7] Estella-Hermoso de Mendoza A, Campanero MA, Lana H, Villa-Pulgarin JA, de la Iglesia-Vicente J, Mollinedo F, Blanco-Prieto MJ, Complete inhibition of extranodal dissemination of lymphoma by edelfosine-loaded lipid nanoparticles., *Nanomedicine.* 7, 2012, 679–690.

- [8] Streets AM, Huang Y, Microfluidics for biological measurements with single-molecule resolution., *Curr. Opin. Biotechnol.* 25, 2014, 69–77.
- [9] Khan IU, Serra CA, Anton N, Vandamme T, Microfluidics: a focus on improved cancer targeted drug delivery systems., *J. Control. Release.* 172, 2013, 1065–1074.
- [10] Rivet C, Lee H, Hirsch A, Hamilton S, Lu H, Microfluidics for medical diagnostics and biosensors, *Chem. Eng. Sci.* 66, 2011, 1490–1507.
- [11] Riahi R, Tamayol A, Shaegh SAM, Ghaemmaghami AM, Dokmeci MR, Khademhosseini A, Microfluidics for advanced drug delivery systems, *Curr. Opin. Chem. Eng.* 7, 2015, 101–112.
- [12] Tam MD, Pamme N, Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering, Elsevier, 2014.
- [13] Bhise NS, Ribas J, Manoharan V, Zhang YS, Polini A, Massa S, Dokmeci MR, Khademhosseini A, Organ-on-a-chip platforms for studying drug delivery systems., *J. Control. Release.* 190, 2014, 82–93.
- [14] Huh D, Matthews BD, Mammoto A, Montoya-Zavala M, Hsin HY, Ingber DE, Reconstituting organ-level lung functions on a chip., *Science.* 328, 2010, 1662–1668.
- [15] Farokhzad OC, Khademhosseini A, Jon S, Hermmann A, Cheng J, Chin C, Kiselyuk A, Teply B, Eng G, Langer R, Microfluidic system for studying the interaction of nanoparticles and microparticles with cells., *Anal. Chem.* 77, 2005, 5453–5459.
- [16] Mitxelena-Iribarren O, Mujika Garmendia M, Pérez-Lorenzo E, Blanco-Prieto MJ, Arana Alonso S, Simulación y desarrollo de una plataforma microfluidica para estudios celulares dinámicos in vitro, *XXXIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2015)*, Madrid, 2015.
- [17] Mitxelena-Iribarren O, Hisey CL, González-Fernández Y, Imbuluzqueta E, Mujika M, Blanco-Prieto MJ, Arana S, Microfluidic platform for dynamic in vitro cytotoxicity analysis of free methotrexate and methotrexate-lipid nanoparticles to improve osteosarcoma therapies. *BIOSENSORS 2016*, Gotemburgo, 2016

Microfluidic Platform for Circulating Tumor Cells Isolation

L. Figueras-Mari¹, R. Rodríguez-Trujillo^{1,2}, J. Samitier-Martí^{1,2,3}

¹ Nanobioengineering Group, Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Barcelona, Spain
{rrodriguez, jsamitier}@ibecbarcelona.eu

² Department of Engineering, University of Barcelona, Barcelona, Spain

³ Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Edificio CEEI, Zaragoza, Spain

Abstract

Circulating tumor cells (CTCs) are released from primary tumors into the bloodstream and transported to distant organs, promoting metastasis, which is known to be responsible for most cancer-related deaths. Currently tumors are not found until symptoms appear or by chance when the patient undergoes a medical test, which in both situations can be too late. Once a tumor is found it is studied from tissue samples obtained directly from the patient in an invasive way. This invasive procedure is known as biopsy and apart from being invasive, it is costly, time consuming and can sometimes be painful and even risky for the patients' health condition. Therefore, CTCs detection in blood also addressed as "liquid biopsy" would be very useful because by running routine blood analysis CTCs could be detected and collected suggesting tumor presence. However, due to the scarce presence in blood of these cells and to the huge amount of contamination from other cellular components a perfect method providing good capture and purity of CTCs has not been developed yet. In this project, a spiral size sorter microfluidic device has been manufactured and tested in order to determine its performance and limitations. Device performance was tested with different dilutions of healthy donor blood samples mixed with 30 micron particles simulating CTCs. The results obtained from these experiments show very good CTC recovery of up to 100% and the depletion of blood cellular components is around 99.9%.

1. Introduction

Circulating tumor cells are released from primary tumors into the bloodstream and transported to distant organs, promoting metastasis which is known to be responsible for most cancer-related deaths. As these cells come directly from the tumor, they would provide us with valuable information about the tumor's nature and its molecular targets enabling physicians to determine the appropriate treatment for the patient [1] among other utilities.

Currently tumors are not found until symptoms appear or by chance when the patient undergoes a medical test, which in both situations can be too late for the patient. Once a tumor is found, it is studied from tissue samples obtained directly from the patient in an invasive way. This invasive procedure is known as biopsy and apart from being invasive, it is costly, time consuming and can sometimes be painful and even risky for the patients' health condition.

Therefore, CTCs detection in blood also addressed as liquid biopsy would be useful because by running routine blood analysis CTCs could be detected and collected suggesting tumor presence. Therefore, liquid biopsy would enable cancer early diagnose reducing the morbidity of the disease.

For all these reasons, developing a platform that could allow CTCs isolation and detection would be a major improvement in the study and treatment of cancer. CTCs are very scarce in patients' blood samples. These are present in a proportion that goes from 10 to 100 per ml while red blood cells (RBCs) and white blood cells (WBCs) are present in a proportion over 10^9 and 10^6 per ml respectively. Therefore, first of all there is a need to have a good system to isolate CTCs from RBCs and WBCs to then be able to detect them

Lab-on-chip (LOC) technologies have been exploited in the recent years for several biomedical applications such as diagnostics, biochemical assays and drug discovery among others. Microfluidics and LOC technologies are directly correlated terms since LOC technologies aim to integrate and bring different lab processes into the microscale in order to exploit the advantages working at this scale provides. Therefore, these devices are frequently composed of microchannels, micropumps, electrodes and all the required elements in order to enable processing really low amounts of liquid.

Nowadays, most of the analytical and diagnostic assays are done in hospital laboratories, which are composed of chains of automated pipetting robots, which consume a lot of power and space. Microfluidic LOC platforms arise as an alternative to the actual model of diagnose since these offer a wide range of new opportunities [2].

Within the last ten years, scientist have devoted special attention to the use of microfluidic strategies for the separation of CTCs from blood samples. There are two main groups of separation methodologies i.e., "label-free" methods and "affinity-based" methodologies. The latest rely on the antibody-antigen specific binding to effectively isolate CTCs and have been the most common and exploited methods in the latest years. They are based on EpCAM, which is a cell surface glycoprotein that is overexpressed in epithelial cancers and has lower levels in normal epithelial tissue [3]. However, EpCAM is not a

universal CTC marker since it is not expressed in all kinds of cancers. In addition, EMT (endothelial to mesenchymal transition) is responsible for changing the CTCs phenotype from endothelial to mesenchymal when these extravasate into the circulatory system. Therefore, even for endothelial cancers EpCAM cannot be considered a truly specific marker of CTCs since these can change its phenotype, which implies a very diverse protein expression profile.

On the contrary, “label-free” methods take advantage of the physical features of CTCs (such as size, density, elasticity, electrical properties, etc.) in order to separate them from RBCs and WBCs. The most important label free methods are size-based methods. The main differential feature of CTCs is their size, which usually goes from 15 to 30 microns while that of RBCs is approximately 7.5 microns and that of WBCs goes from 8 to 20 microns.

A set of different techniques have arisen in the latest years to take advantage of size-based features to isolate CTCs. The most prominent have been the ones that use membrane filters [4,5] and hydrodynamic sorting [6-8]. Membrane filters are simple methods that consist on flowing our blood sample through an array of micro constrictions. Typically, these constrictions are fabricated so that CTCs cannot pass through them due to its large size, so they are meant to let WBCs and RBCs pass while trapping CTCs. These kinds of filters however, usually have to deal with problems of clogging when working with high cellular concentrations which makes it impossible for them to work properly with whole blood. Moreover, in order to avoid this clogging issue the flow has to be reduced so the obtained throughput of the device is, in general, quite low.

Separation methods relying on hydrodynamic sorting appear as very good alternative for CTCs isolation in concentrated blood samples. These methods are based on hydrodynamic lift forces acting on particles that arise from inertial effects in microfluidic systems [7]. They are simple microfluidic devices based on straightforward fabrication techniques that can work with undiluted or low-dilution blood samples at high flow rates.

In this paper, we describe the development of a microfluidics platform that allows isolating the CTCs from a blood sample. Our device is based on hydrodynamic sorting effect using a spiral microfluidic channel [8]. We have studied the influence of several parameters (hematocrit, flow rate, CTC's concentration) in the performance of the device and obtained very good results with CTC recovery of up to 100% and depletion of blood cellular components of around 99.9%. With respect to other hydrodynamic methods, the spiral microfluidic inertial effect used in this contribution enables to work with high concentrated samples (like blood) and at very high flow rates [8].

2. Theory

In straight microchannels there are two main forces governing the lateral (transversal to the direction of motion) position of particles. The “shear gradient lift force” is generated from the parabolic velocity profile of Poiseuille flow and it makes cells migrate towards to channel walls. On the contrary, the “wall effect lift” does the opposite and make the cells migrate towards the channel center [7].

In curved channels hydrodynamic phenomena are a little bit more complex since cross-sectional flows known as Dean Flows appear. These consist of two counter rotating vortices with flow directed toward the outer bend at the midline of the channel and inwards at the channel edges [12]. Therefore, particles experience a drag force in the direction on the counter rotating vortices. Equilibrium in curved channel mainly depends on the balance of dean drag force and inertial lift force.

Di Carlo et al. [7] extensively studied the particle focusing in curved channels and experimentally assessed the ratio R_f between inertial lift force and Dean drag force (eqn. 1), being “a” the particle radius, “R” the curvature radius of the channel and “H” the smallest dimension in the channel:

$$\frac{\text{Lift forces}}{\text{Dean Drag forces}} = R_f = \frac{a^2 R}{H^3} \quad (1)$$

According to their experimental results, when R_f is higher or equal to 0.04 lift forces starts to dominate and particles cannot keep on following de Dean flow and start getting focused in one side of the channel. Likewise, when R_f is smaller than the aforementioned value particles move across the channel cross-section following the Dean flow motion.

Since the radius of CTCs is bigger than that of RBCs and WBCs and assuming that H is fixed, there will be a set of R values for which R_f will be above the threshold for CTCs and below it for RBCs and most of WBCs. As a result, big cells will focus in a lateral position while RBCs will keep on moving in the direction of the Dean flow allowing having the cellular populations clearly separated in certain moments. This is the exact principle that it is exploited in our developed spiral device to obtain a good separation of CTCs.

3. Materials and Methods

The microfluidic channels were fabricated in Poly-Dimethyl Sioloxane (PDMS) by a mold-cast replica technique. The molds were fabricated by photolithography using SU-8 2100 (*MicroChem*) photoresist. Briefly, we printed a photolithography mask designed by a CAD-software containing the microfluidic channels layout (Fig. 1). Then the resist was poured and spinned onto a glass substrate (75x25 microscope slides, *Cornell*) until the desired thickness was obtained. Further steps consist on pre-exposure bake using a hotplate (65 °C during 5 minutes), exposure with a UV-lamp (*Karl-Suss*)

through the mask and post-exposure bake (95 °C during 30 minutes). Finally, the sample is chemically developed (*SU8-developer, MicroChem*), washed and dried.

The masters are then treated with a fluorinated silane vapor, in order to passivate its surface so that they are not permanently attached to the polymer. PDMS (*Dow-Corning*) is prepared by mixing the polymer and a curing agent in a ratio 10:1 and is then poured on top of the fabricated mold, cured at 90 °C for 2 hours and demolded. Finally, the resulting PDMS microchannels are cleaned with ethanol and irreversibly bonded to a bare glass slide using plasma oxidation.

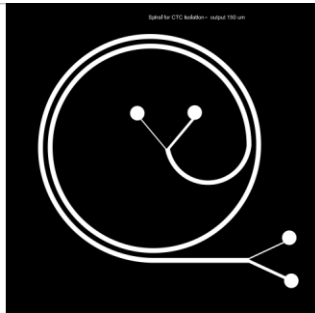


Figura 1. Mask design of the spiral device

The experimental equipment required for carrying out all the experiments is the following. The device is placed on an inverted microscope Olympus IX71 which is focused on the outlet division so that the position of the cells can be checked. This microscope coupled with a PC and the appropriate software enables taking screenshots or recording live video. Two syringe pumps (*Harvard Apparatus*) are used in order to introduce the blood and the PBS into their corresponding inlets of the device. Teflon tubing was used to interface liquids through inlets and outlets of the device (Fig. 2). Blood samples were obtained from healthy donors. 30 micron particles and phosphate buffered saline (PBS) were purchased from Sigma-Aldrich.

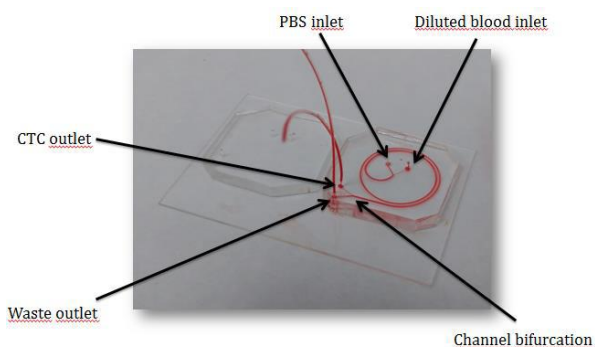


Figura 2. Fully developed CTC sorting device

4. Results and discussion

A first sample was prepared by diluting whole blood from donors at a ratio 1:1 (2X dilution) with PBS (RBCs

concentration is 10^9 particles per milliliter approximately). Subsequently, 30 micron particles were added to the sample in order to simulate the CTCs and evaluate the performance of the chip in terms of particle recovery. Experiments with particle concentration ranging from 1×10^5 to 1×10^3 per milliliter were carried out and similar results were obtained.

The qualitative results obtained showed that for all the devices the majority of the particles were focused at the internal wall of the channels (Fig. 3) at the bifurcation point so the particles were correctly recovered.

As explained previously an important factor threatening the performance of the sorting device in terms of blood cells elimination is the cell-cell interaction. This interaction increases with the hematocrit and broadens the blood-cell focused band, which makes that a certain part of those cells pass through the CTCs outlet contaminating the results. In order to study this effect, experiments with varying hematocrit were performed. 2.5X and 10X blood dilutions with particles were prepared and run through the device.



Figura 3. Stacked images showing the movement of a particle in the bifurcation of the device. It can be clearly appreciated how it is separated from the main part of the blood cells.

For the 2.5X blood dilution the level of hematocrit is around 16% and the qualitative results obtained are similar to those obtained in the previous experiments since these were performed at a similar hematocrit level (dilution 2X). In Fig. 4A, it can be seen that the RBC band is really dense and even gets a dark color in the outer wall. It can also be seen that the band is really broad and even though that probably not all the cells going to the CTCs outlet are blood cells, most of them are.

Finally, as for the 10X blood dilution in Fig. 4B it can be seen that blood cells are perfectly focused at the outer wall of the channel implying that barely any cell reaches the CTCs separation outlet. The aforementioned qualitative results seem to demonstrate that indeed the hematocrit level affects the performance of the device in terms of purity.

These results are very promising but quantitative values of blood cells depletion and particle recovery are required in order to support the good performance of the device. In order to obtain these qualitative results, samples were collected both at the waste and the CTCs outlet and then brought to the flow cytometry department at the

University of Barcelona where we could analyze them with the appropriate equipment (Gallios Flow Cytometer, Beckman Coulter).

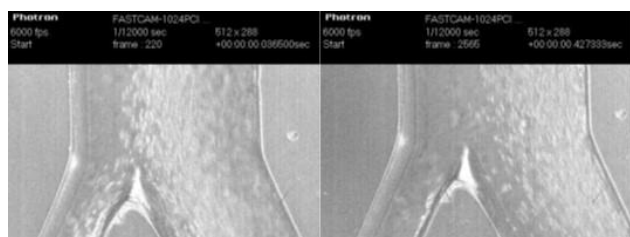


Figura 4. A) Separation profile for a 2.5X diluted blood sample. B) Separation profile for a 10X diluted blood sample.

Quantitative results were obtained from an experiment accounting for different levels of hematocrit blood (2.5X and 10X dilutions) with 30 micron particles to simulate CTCs (Fig. 5).

Regarding the results obtained, 2.5X diluted blood samples provided a 98.3% of RBCs depletion, an 88% of WBCs removal and an 81% of particle recovery rate which implies an enrichment of around 50 fold with respect of RBCs and another one of 3 fold over WBCs. Thus, the remaining level of RBCs and WBCs per milliliter is 4×10^7 and 8×10^5 respectively.

As for 10X diluted blood samples, these provide a 99.3% of RBCs depletion, an 87% of WBCs depletion and a 100% of CTC recovery rate, which implies an enrichment of 143 fold with respect to RBCs and another one of 7.7 fold over WBCs. Thus, the remaining level of RBCs and WBCs per milliliter is 4.2×10^6 and 9.1×10^4 respectively.

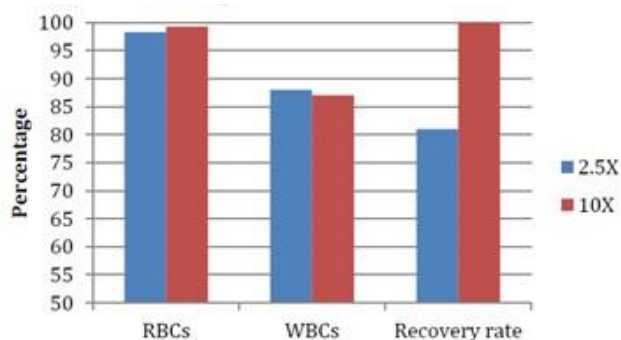


Figura 5. Flow cytometry results for blood cell depletion and particle recovery rates.

These results regarding recovery of CTCs are very promising since it is proved that the device effectively recovers most of the 30 micron particles. This suggest that our developed device can be effectively used for circulating tumor cell isolation.

5. Conclusions

A microfluidic separator device to isolate circulating tumor cells (CTCs) from blood has been developed and tested. Very good results have been obtained for mixed

samples of blood and 30 micron particles used to simulate CTCs. The results show very high blood cell separation rates of up to 99% even at high hematocrit levels of around 16% (2.5X diluted blood). Regarding particle recovery, the results are very promising with 100% of particles recovered. The obtained results suggest that this device can be used for CTCs separation from blood samples.

Acknowledgments

We thank David Izquierdo for his valuable help and tips during this research. The authors would also like to thank Margarita Alvira for fruitful discussion. R. The research leading to these results has received funding from the People program (Marie Curie Actions) Seventh Framework Programme of the European Union (FP7/2007-2013) under grant agreement no. 600,388 of REA and the Agency for Business Competitiveness, ACCIÓ. CIBER-BBN is an initiative funded by the VI National R&D&i Plan 2008–2011, Iniciativa Ingenio 2010, Consolider Program, CIBER Actions and financed by the Instituto de Salud Carlos III with assistance from the European Regional Development Fund. The Nanobioengineering group has support from the Commission for Universities and Research of the Department of Innovation, Universities, and Enterprise of the Generalitat de Catalunya (2009 SGR 505).

References

- [1] Webpage: “Liquid biopsies: Tumour diagnosis and treatment monitoring in a blood test | ESMO.”[Online]. Available: <http://www.esmo.org/Conferences/Past-Conferences/ESMO-2014-Congress/News-Articles/Liquid-biopsies-Tumour-diagnosis-and-treatment-monitoring-in-a-blood-test>. [Accessed: 21-Sept-2016].
- [2] Mark D, Haeberle S, et al, Microfluidic lab-on-a-chip platforms: requirements, characteristics and applications. *Chemical society reviews*, 2010.
- [3] Martowicz, A et al, The role of EpCAM in physiology and pathology of the epithelium. *Histology and Histopathology*, 2016, pp 349-355.
- [4] Mohamed H, Murray M, Turner JN and Caggana M, Isolation of tumor cells using size and deformation. *Journal of Chromatography A*, 2009, 1216, pp 8289–8295.
- [5] Zheng S, Lin H, Lu B, Williams A, et al, 3D microfilter device for viable CTC enrichment from blood. *Biomed microdevices*, 2011; 13(1).
- [6] Sollier E, Go D, Che J, Gosset D, et al, Size-selective collection of CTCs using vortex technology. *Lab on a Chip*, 2014, pp 63-77.
- [7] Di Carlo D, Irimia D, Tompkins R and Toner M, Continuous inertial focusing, ordering and separation of particles in microchannels. *PNAS*, 2007.
- [8] Hou H, Warkiani M, Khoo B, et al, Isolation and retrieval of circulating tumor cells using centrifugal forces. *Nature scientific reports*, 2013.

Influencia del voltaje en la formación de nanotubos en aleaciones α , $\alpha+\beta$ y β de titanio

J. Lario Femenía¹, A. Vicente Escuder¹, A. Amigó Mata¹, E. Francisco Segovia López¹, V. Amigó Borrás¹

¹ UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA, DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA MECÁNICA Y DE MATERIALES. Camino de Vera s/n, 46022 Valencia. joalafe@posgrado.upv.es

Resumen

En los últimos años, se ha incrementado el interés en los tratamientos superficiales de las prótesis metálicas para mejorar la osteointegración. La modificación de la rugosidad y área superficial pueden proporcionar un medio más adecuado para la adsorción de proteínas y el crecimiento celular, acelerando el proceso de regeneración del hueso y mejorando a corto y largo plazo la osteointegración de los implantes.

Este artículo se centra en la evaluación de la influencia del voltaje, en el anodizado electroquímico, y su efecto en la obtención de nanotubos en la superficie de aleaciones de Ti CP Grado 2 (fase α), Ti-6Al-4V ELI ($\alpha+\beta$) y Ti-35Nb-10Ta (β).

La caracterización estructural ha permitido realizar un estudio de la evolución del diámetro de los nanotubos en las diferentes aleaciones estudiadas. Se ha observado que la formación de nanotubos depende de la microestructura, de las fases presentes y del voltaje aplicado. El análisis EDS ha mostrado que el anodizado electroquímico ha producido una capa de óxido que cubre toda la superficie, pudiéndose detectar contenidos de flúor, en porcentaje másico, alrededor del 7-9%.

Los resultados experimentales obtenidos ponen en evidencia que el anodizado electroquímico es capaz de obtener, de forma rápida y con reducido coste, una capa superficial de óxido de titanio con estructura nanotubular. Estas superficies, como indican expertos que se mencionan en este artículo, mejoran el crecimiento celular y óseo.

1. INTRODUCCIÓN

La mayoría de los implantes fallan porque se pierde la interfase entre el implante y el hueso, sugiriendo que existe una deficiente osteointegración que contribuye a su fallo [1]. L. Bjursten et al resaltaron la importancia de incrementar la unión del implante al hueso, dado que la vida media de un implante ortopédico está comprendido entre los 10-15 años, que implica que los pacientes deben someterse a dificultosas operaciones de revisión, con largos periodos de rehabilitación [1]. La principal problemática en la sustitución de una prótesis es que el hueso receptor se encuentra más deteriorado, presentando menores tasas de osteointegración. Como consecuencia es importante desarrollar nuevos materiales y tratamientos superficiales con mayores tasas de osteointegración, ya que aumentará la vida útil, mejorará la biocompatibilidad y pospondrá las revisiones quirúrgicas.

Las prótesis metálicas no solo necesitan disponer de una compatibilidad mecánica con el hueso que sustituyen, que se consigue mediante una combinación de bajo módulo elástico, una alta resistencia a la rotura y una elevada

resistencia a la fatiga, sino que también deben de presentar una elevada biocompatibilidad. Las aleaciones de titanio presentan un módulo elástico y una densidad menor que los aceros inoxidables o las aleaciones de Co-Cr utilizadas como biomateriales. Se disminuye así un posible efecto de atrofia o reabsorción ósea en el hueso cercano al biomaterial implantado [2, 3]. Entre las aleaciones de titanio las β presentan un módulo elástico más cercano al del hueso, excelente resistencia mecánica, elevada resistencia a la corrosión, además, están compuestas por elementos biocompatibles que no causan efectos tóxicos y tienen una elevada adhesión celular [4, 5].

El éxito clínico de los implantes está basado en la consecución de la osteointegración, es decir la conexión directa estructural y funcional entre el hueso vivo y la superficie del implante. Para poder alcanzar la integración son necesarios varios meses. La mejora, a corto y largo plazo, de la osteointegración es función, entre otros factores, del material y la topografía superficial. En los últimos años se ha incrementado el interés en los tratamientos superficiales, de las prótesis metálicas, para mejorar la osteointegración [6-8]. Dentro de estos se encuentran, ampliamente utilizadas en las aleaciones de titanio, las técnicas que permiten producir una capa de óxido. El titanio, igual que el resto de los metales de transición, es capaz de formar una capa de óxido en su superficie, por lo que puede ser sometido a tratamientos electroquímicos para la modificación de su superficie. Este se puede realizar a través de una reacción de oxidación-reducción, producida por una diferencia de potencial entre el cátodo y el ánodo [9]. La oxidación electroquímica con electrolitos que contiene iones de fluor, está centrando el interés de los investigadores, ya que permite obtener, de forma rápida y con reducido coste, una capa superficial, con estructura nanotubular, de óxido de titanio o de otro metal de transición [10].

El objetivo de este artículo ha sido obtener, mediante la técnica de anodizado electroquímico, nanotubos en tres tipos de aleaciones de titanio, estudiándose la influencia de la microestructura de la aleación y el voltaje aplicado en la morfología de los nanotubos.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Se empleó Ti CP Grado 2 suministrado por Kovarex S.L., Ti6Al4V ELI suministrado por Carpenter Technology

Corporation, y el Ti-35Nb-10Ta fabricado por vía Pulvimetalúrgica. Los polvos empleados han sido suministrados por Sejong Materials Co. Ltd para el caso del titanio, mientras que los polvos de niobio y tantalio han sido suministrados por Alfa Aesar® a Johnson Matthey Company. Las probetas se han sinterizado en un horno de alto vacío Carbolite HVT 15/75/450. El ciclo de sinterizado se realizó con un vacío $<10^{-4}$ bares, a una temperatura máxima de 1300 °C, y con una curva de calentamiento y enfriamiento de 10 °C/min, durante un periodo de 180 minutos. Para conseguir una superficie homogénea las muestras fueron desbastadas, partiendo de un grano 500 hasta llegar a un grano 1500; tras esto se lavaron con agua destilada y secaron con aire caliente.

El anodizado electroquímico, para la formación de los nanotubos, se ha realizado con una configuración convencional de dos electrodos (la aleación de titanio es el electrodo de trabajo y el electrodo de acero 316L actúa como contraelectrodo). Los ensayos se llevaron a cabo en un electrolito compuesto por ácido fosfórico (H_3PO_4 1M) con adicción de un 0,8% (peso/volumen) de fluoruro sódico (NaF). El pH se ajustó a 3,6 mediante la adicción de NaOH. El anodizado se realizó a temperatura ambiente, durante 60 minutos. El equipo empleado fue un DC Power Supply SM 400 - AR - 8 de Delta Elektronika, estudiándose los potenciales máximos de 25 y 35V. Después del anodizado electroquímico las muestras se lavaron con agua destilada durante 15 segundos, con un segundo lavado (para desactivar el electrolito) en una disolución 0,25M de carbonato sódico monohidratado durante 15 segundos, y finalmente fueron lavadas en agua destilada con ultrasonidos durante 10 minutos; posteriormente se secaron con aire caliente.

Las caracterizaciones de sinterabilidad y mecánica de la aleación pulvimetalúrgica de Ti35Nb10Ta se llevó a cabo mediante el método de Arquímedes, la resistencia máxima a flexión, el módulo elástico y la microdureza. Su estudio microestructural para la identificación de las fases presentes, su morfología, homogeneidad y distribución, se ha realizado mediante microscopía óptica. La microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM), equipada con un detector de EDS de Oxford Instruments Ltd., se ha empleado para estudiar la morfología y composición de los nanotubos. Con el programa abierto de tratamiento de imagen ImageJ, ha sido posible medir su diámetro a partir de las imágenes obtenidas en FESEM tras el tratamiento de anodizado electroquímico.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mediante el estudio de las propiedades mecánicas y de la sinterabilidad se ha caracterizado la aleación Ti35Nb10Ta. Con la información recopilada en las fichas técnicas de los proveedores de las aleaciones de Ti CP y Ti6Al4V ELI se ha construido la Tabla 1; esta resume varias propiedades de las tres aleaciones empleadas en este estudio. Con las imágenes obtenidas mediante FESEM, y con el empleo del software ImageJ ha sido posible medir, en función del voltaje aplicado y el tipo de aleación, el diámetro de los nanotubos, Figura 1.

El mecanismo básico para su formación está compuesto

por dos procesos, el primero es el ataque químico y el segundo la disolución química. Se inicia con la formación, debida a la interacción de Ti^{4+} , Nb^{5+} , Ta^{5+} y Zr^{4+} y los iones O^{2-} [11], de una capa inicial de óxido en la superficie de la aleación de titanio.

Tabla 1. Propiedades de las aleaciones estudiadas

Propiedades	Ti CP Grado 2	Ti6Al4V ELI	Ti35Nb10Ta
Densidad Relativa (%)	99,9	99,9	97
Microestructura	α	$\alpha+\beta$	β
Resistencia máxima (MPa)	345	1140	800
Elongación (%)	20	25	10
Dureza (HB)	145	341	210
Módulo Elástico (GPa)	103	110	80

Sigue con el fenómeno de corrosión por picadura, éste se produce por la disolución localizada de los iones de F⁻. Las picaduras en la superficie del implante se convierten en poros de mayor tamaño; su crecimiento ocurre por el desplazamiento de la capa de óxido hacia el interior. El avance, de esta oxidación selectiva, separa unas picaduras de otras y permite la formación de los nanotubos [12].

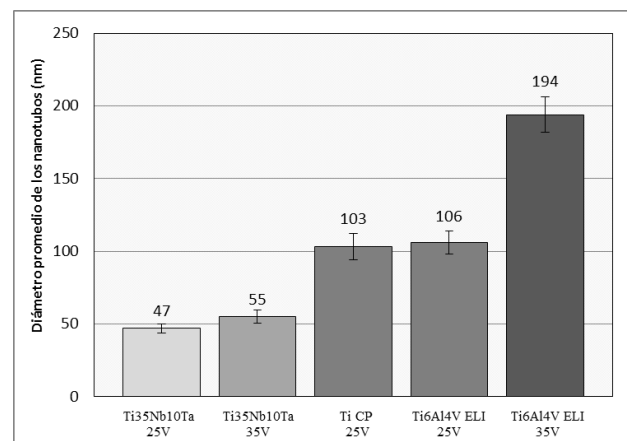


Figura 1. Diámetro promedio de los nanotubos en función del voltaje y tipo de aleación.

El diámetro promedio de los nanotubos estudiados, para las tres aleaciones, va aumentando a medida que se incrementa el voltaje, corroborando lo observado por S. Bauer [13]. No se han representado los valores del diámetro para el Ti CP con un voltaje de 35V, porque este voltaje provoca el colapso y derrumbe de los nanotubos, tal y como se puede ver en las imágenes “D”, “E” y “F” (Figura 2). En la aleación de Ti-6Al-4V hay zonas donde no se han formado nanotubos, estas pertenecen a las partículas con fase β ; la mayor tasa de disolución de esta fase se hace evidente por las microcavidades observadas (imágenes de G a la L, Figura 2). En estas mismas imágenes es posible observar depósitos, que cubren parcialmente la superficie de nanotubos, varios autores los han identificados como $TiO(OH)_2$ y $Ti(OH)_4$ [14]. El aumento de la rugosidad en la superficie del implante, gracias a la formación de los nanotubos, mejora la mojabilidad, favoreciendo la fijación de las células mediante la formación de contactos locales y la absorción de proteínas [6]. Con el tiempo estos implantes con mayor rugosidad se fijan mejor en el lecho del implante, este fenómeno se produce porque el hueso crece dentro de las irregularidades de la superficie [7].

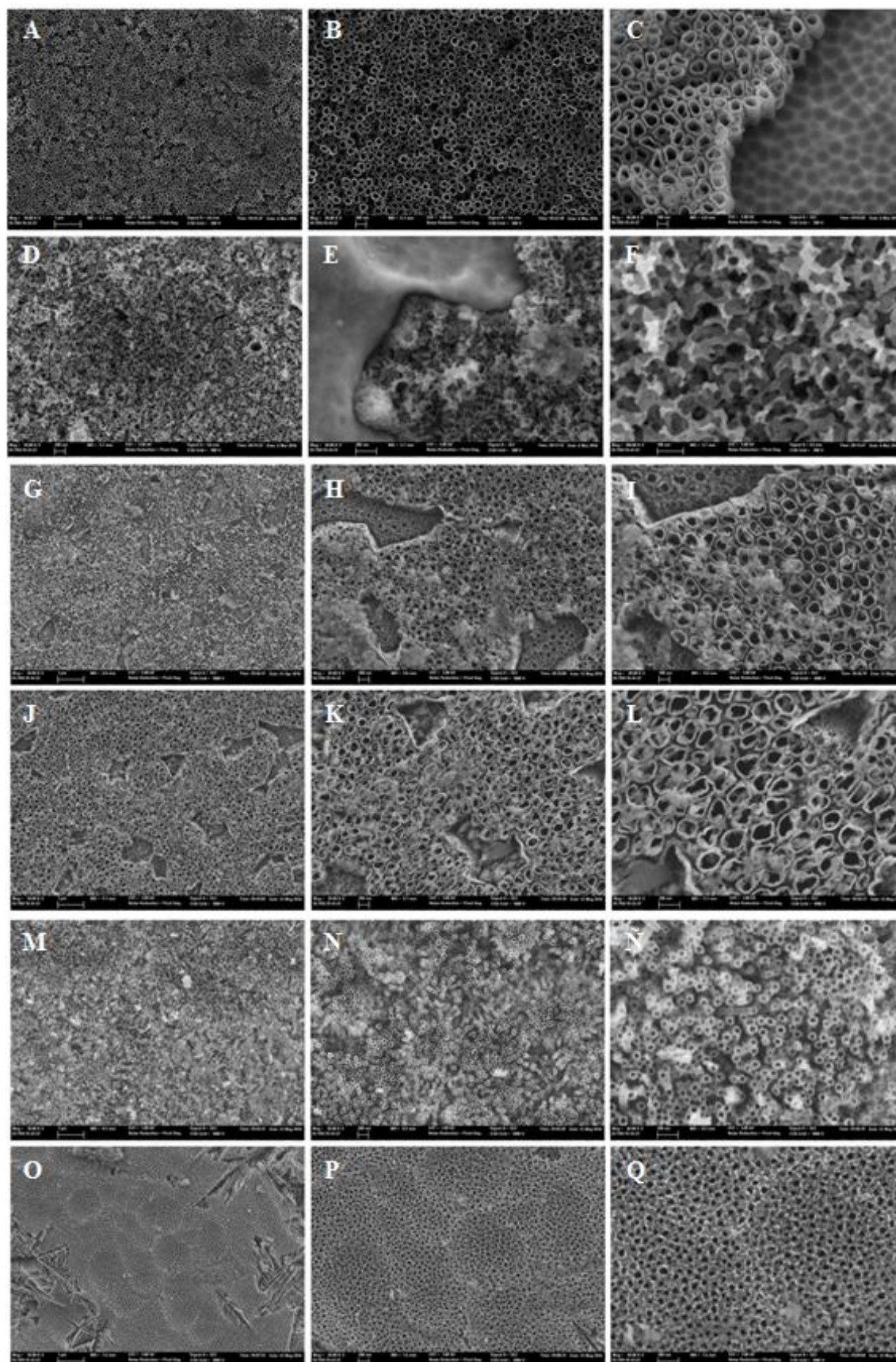


Figura 2: Nanotubos en aleaciones Ti CP, Ti-6Al-4V ELI, Ti35Nb10Ta. **A)** Ti CP 25V 10.000x. **B)** Ti CP 25V 20.000x. **C)** Ti CP 25V 40.000x. **D)** Ti CP 35V 20.000x. **E)** Ti CP 35V 40.000x. **F)** Ti CP 35V 100.000x. **G)** Ti6Al4V ELI 25V 10.000x. **H)** Ti6Al4V ELI 25V 20.000x. **I)** Ti6Al4V ELI 25V 40.000x. **J)** Ti6Al4V ELI 35V 10.000x. **K)** Ti6Al4V ELI 35V 20.000x. **L)** Ti6Al4V ELI 35V 40.000x. **M)** Ti35Nb10Ta 25V 10.000x. **N)** Ti35Nb10Ta 25V 20.000x. **Ñ)** Ti35Nb10Ta 25V 40.000x. **O)** Ti35Nb10Ta 35V 10.000x. **P)** Ti35Nb10Ta 35V 20.000x. **Q)** Ti35Nb10Ta 35V 40.000x.

En la Figura 1 aparecen los diámetros promedio de los nanotubos de las diferentes aleaciones. Se observa que las aleaciones β de titanio presentan un diámetro menor, cercano a los 50 nm, al compararlas con las aleaciones α y $\alpha+\beta$ que presentan un diámetro cercano a los 100 nm.

El pH y la concentración de iones flúor influyen sobre la capacidad de hidrólisis del electrolito sobre la capa de óxido de titanio [9]. Para aumentar la homogeneidad y mejorar la morfología de los nanotubos en las aleaciones de Ti35Nb10Ta se deberá estudiar, en futuras investigaciones, el efecto que presenta la reducción de concentración de NaF y el incremento del pH en el proceso de anodizado.

El anodizado ha permitido obtener una superficie de óxido de titanio, aluminio y vanadio para el caso de la aleación Ti6Al4V ELI, y de óxido de titanio, niobio y tantalio para la aleación de Ti35Nb10Ta. El análisis cuantitativo tras el anodizado, mediante EDS, ha permitido conocer la composición másica de las superficies, Tabla 2.

Tabla 2. Composición química tras el anodizado (EDS).

Elementos	Ti6Al4V	Ti6Al4V	Ti35Nb10Ta	Ti35Nb10Ta
	25V	35V	25V	35V
Ti (% en peso)	57.34	52.43	26.33	28.54
O (% en peso)	25.13	28.04	33.32	30.92
F (% en peso)	7.41	10.60	7.9	6.49
Al (% en peso)	4.02	3.33	N/A	N/A
C (% en peso)	4.21	3.00	4.42	3.89
V (% en peso)	1.89	2.07	N/A	N/A
Nb (% en peso)	N/A	N/A	21.06	22.66
Ta (% en peso)	N/A	N/A	6.92	7.50

Se ha observado, además, la presencia de flúor en las dos aleaciones estudiadas; se debe a la existencia de restos del electrolito empleado para el anodizado electroquímico, tal como reportan otros autores [12, 13]. Un tratamiento térmico posterior permitiría la obtención de la estructura cristalina en los nanotubos y ayudaría a eliminar restos de flúor, que pueden ser tóxicos para el huésped [6].

4. Conclusiones

El anodizado electroquímico, en H_3PO_4/NaF , ha permitido obtener nanotubos en aleaciones α , $\alpha+\beta$ y β . Las dimensiones, morfología y estructura de los nanotubos de óxido de titanio dependen de la microestructura de la aleación de titanio y pueden controlarse, modificando sus parámetros, durante su proceso de anodizado.

Las aleaciones β presentan un diámetro de nanotubos menor, si se compara con las aleaciones α y $\alpha+\beta$ estudiadas, este efecto está provocado por una diferente tasa de disolución de las aleaciones de titanio con microestructura β . El aumento del voltaje incrementa su diámetro, este efecto se reduce a medida que aumenta la concentración de fase β en la aleación.

Las aleaciones, con una geometría a escala nanométrica y formada por óxidos, se caracterizan por una elevada energía superficial, bajo ángulo de contacto y elevada mojabilidad [6, 8]. Estas propiedades mejoran la tasa de osteointegración y la vida útil de los implantes [7]. Este tipo de geometrías pueden incorporar en su interior agentes bioactivos, para combatir infecciones ya que

tienen la capacidad de liberarlos gradualmente en las cercanías del implante, reduciendo la inflamación y promoviendo el crecimiento celular, todo lo cual mejora la osteointegración a corto plazo.

Agradecimientos

Al Ministerio de Economía y Competitividad del Gobierno de España la financiación recibida a través del proyecto de investigación MAT2014-53764-C3-1-R. A la UE por la financiación recibida a través del FEDER en el proyecto UPOV08-3E-005 para la compra de equipamiento. Al servicio de Microscopía de la Universitat Politècnica de València, por su uso.

Referencias

- [1] Bjursten, L. M., Rasmusson, L., Oh, S., Smith, G. C., Brammer, K. S., & Jin, S. (2010). Titanium dioxide nanotubes enhance bone bonding in vivo. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 92(3), 1218–1224. <http://doi.org/10.1002/jbm.a.32463>
- [2] Niinomi, M. (2008). Mechanical biocompatibilities of titanium alloys for biomedical applications. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 1, 30–42. <http://doi.org/10.1016/j.jmbmm.2007.07.001>
- [3] Ryan, G., Pandit, A., & Apatsidis, D. P. (2006). Fabrication methods of porous metals for use in orthopaedic applications. *Biomaterials*, 27, 2651–2670. <http://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.12.002>
- [4] Cremasco, A., Messias, A. D., Esposito, A. R., Duek, E. A. D. R., & Caram, R. (2011). Effects of alloying elements on the cytotoxic response of titanium alloys. *Materials Science and Engineering C*, 31(5), 833–839. <http://doi.org/10.1016/j.msec.2010.12.013>
- [5] Niinomi, M. (1998). Mechanical properties of biomedical titanium alloys. *Materials Science and Engineering: A*, 243, 231–236. [http://doi.org/10.1016/S0921-5093\(97\)00806-X](http://doi.org/10.1016/S0921-5093(97)00806-X)
- [6] Minagar, S., Wang, J., Berndt, C. C., Ivanova, E. P., & Wen, C. (2013). Cell response of anodized nanotubes on titanium and titanium alloys. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 101A (9), 2726–2739. <http://doi.org/10.1002/jbm.a.34575>
- [7] Salou, L., Hoomaert, A., Louarn, G., & Layrolle, P. (2015). Enhanced osseointegration of titanium implants with nanostructured surfaces: An experimental study in rabbits. *Acta Biomaterialia*, 11, 494–502. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.10.017>
- [8] Hao, Y. Q., Li, S. J., Hao, Y. L., Zhao, Y. K., & Ai, H. J. (2013). Effect of nanotube diameters on bioactivity of a multifunctional titanium alloy. *Applied Surface Science*, 268, 44–51. <http://doi.org/10.1016/j.apsusc.2012.11.142>
- [9] Minagar, S., Berndt, C. C., Wang, J., Ivanova, E., & Wen, C. (2012). A review of the application of anodization for the fabrication of nanotubes on metal implant surfaces. *Acta Biomaterialia*, 8(8), 2875–2888. <http://doi.org/10.1016/j.actbio.2012.04.005>
- [10] Berger, S., Hahn, R., Roy, P., & Schmuki, P. (2010). Self-organized TiO₂ nanotubes: Factors affecting their morphology and properties. *Physica Status Solidi (B) Basic Research*, 247(10), 2424–2435. <http://doi.org/10.1002/pssb.201046373>
- [11] Choe, H. C., Kim, W. G., & Jeong, Y. H. (2010). Surface characteristics of HA coated Ti-30Ta-xZr and Ti-30Nb-xZr alloys after nanotube formation. *Surface and Coatings Technology*, 205(SUPPL. 1), S305–S311. <http://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2010.08.020>
- [12] Berger, S., Albu, S. P., Schmidt-Stein, F., Hildebrand, H., Schmuki, P., Hammond, J. S., Reichlmaier, S. (2011). The origin for tubular growth of TiO₂ nanotubes: A fluoride rich layer between tube-walls. *Surface Science*, 605(19-20), L57–L60. <http://doi.org/10.1016/j.susc.2011.06.019>
- [13] Bauer, S., Pittrof, A., Tsuchiya, H., & Schmuki, P. (2011). Size-effects in TiO₂ nanotubes: Diameter dependent anatase/rutile stabilization. *Electrochemistry Communications*, 13(6), 538–541. <http://doi.org/10.1016/j.elecom.2011.03.003>
- [14] Matykina, E., Hernandez-López, J. M., Conde, A., Domingo, C., De Damborenea, J. J., & Arenas, M. A. (2011). Morphologies of nanostructured TiO₂ doped with F on Ti-6Al-4V alloy. *Electrochimica Acta*, 56(5), 2221–2229. <http://doi.org/10.1016/j.electacta.2010.11.069>

Desarrollo de una plataforma para el estudio de la interacción célula-matriz extracelular en 3D

M. Santiago-Behobide¹, I. Andreu², M. Reyes Elizalde¹

¹ CEIT y TECNUN (Universidad de Navarra) 20018 San Sebastián. (msantiago@ceit.es, relizalde@ceit.es)

² MGEP, Mondragon Unibertsitatea, 20500 Arrasate (ionandreu@gmail.com)

Resumen

Las células perciben y responden a las propiedades mecánicas de su microentorno y por lo tanto, para el estudio in vitro de la interacción célula-matriz extracelular, es necesario disponer de un modelo con hidrogeles de rigidez variable en el rango fisiológico y con células embebidas en 3D. En este trabajo se ha desarrollado una plataforma basada en hidrogeles de ácido hialurónico mediante un único proceso de crosslinking con enlaces de tipo tiol. Se ha variado el % de DTT y se ha medido el módulo elástico efectivo de los hidrogeles en un Microscopio de Fuerza Atómica (AFM) mediante espectroscopia de fuerza. Posteriormente se ha desarrollado un protocolo de cultivo celular en 3D y se ha estudiado la viabilidad celular utilizando calceína. Se han obtenido hidrogeles de HA con un módulo elástico en un rango entre 700 y 19000 Pa que cubren un amplio rango de interés fisiológico. Las células embebidas individualmente en 3D permanecen adheridas a la matriz 24 horas después de haberse completado la gelificación del HA y el medio de cultivo difunde a través del hidrogel, alargando la esperanza de vida de las células.

1. Introducción

Existen muchas evidencias que muestran la gran importancia de los factores mecánicos en procesos como la proliferación, diferenciación [1-2] y migración celular [3], y por tanto, su relevancia en desarrollo, patologías [4] y en medicina regenerativa [5]. La forma en la que las células perciben y responden a su ambiente mecánico es compleja y procede del efecto integrado de las propiedades mecánicas de la matriz extracelular (ECM) y del citoesqueleto, de la mecanotransducción y del transporte de moléculas cuyo gradiente local afecta a la respuesta celular. En particular, la forma en la que las células migran y responden a su entorno tridimensional es consecuencia de un complejo proceso multiescala que integra desde los componentes subcelulares del citoesqueleto (CSK) hasta los de la ECM del tejido. El CSK ejerce fuerzas a través de su estructura contráctil que se transmiten a la ECM por medio de las adhesiones focales. Las adhesiones sirven para anclar la célula a la ECM y juegan un papel crucial en la señalización celular, pudiendo también activar la secreción de enzimas capaces de degradar y remodelar la ECM circundante [6]. Existen estudios de medidas de rigidez en tejido cardíaco que muestran la variabilidad de la rigidez del tejido en zona infartada y sana. La zona sana ronda los 30 kPa para las zonas ricas en colágeno y los 75 kPa para las zonas ricas en elastina. En el caso de la zona infartada cuyo porcentaje de colágeno es mayor, la rigidez llega a ser 3 veces mayor que en las zonas ricas en colágeno del tejido sano [7-8]. Por lo tanto, para estudiar la interacción célula-matriz es necesario desarrollar un

modelo con hidrogeles de rigidez variable en el rango fisiológico y con células embebidas en 3D.

Existen modelos que intentan imitar la estructura de la matriz extracelular para adecuarse a valores fisiológicos de su rigidez como pueden ser matrices de alginato, colágeno y ácido hialurónico [9].

En el caso de los geles de alginato se puede trabajar con rigideces que varían desde 5 kPa hasta 110 kPa [10], pero la morfología de la célula sembrada en estos geles parece ser independiente de la rigidez del hidrogel ya que no pueden remodelar la matriz, siendo esto un problema para realizar ensayos de diferenciación o migración celular.

El colágeno es el primer constituyente orgánico de los tejidos, siendo el colágeno tipo I el más común y el mayor componente estructural de muchos tejidos [11]. Los hidrogeles de colágeno se producen en general elevando las temperaturas y el pH para iniciar el autoensamblaje de las fibras de colágeno. Este proceso puede suceder en presencia de células o medio de cultivo [12]. Su principal ventaja son sus propiedades biomiméticas, además son citocompatibles, no necesitan la adición de ningún elemento para mejorar la adhesión celular y son un entorno viscoelástico nativo para las células [13]. Existen ejemplos de utilización de hidrogeles de colágeno como modelos de microentorno celular en temas que varían desde diferenciación de células madre mesenquimales (MSC) [14] hasta reprogramación de células de carcinoma [15]. No obstante, el colágeno presenta algunas limitaciones, como puede ser la baja rigidez de los hidrogeles poco superior a 1000 Pa, estabilidad limitada a largo plazo o variabilidad entre lotes [16].

El ácido hialurónico (HA) es un glucosaminoglicano no sulfatado compuesto por repetidas unidades disacáridas de glucoronato y N-acetylglucosamina [17]. El HA se encuentra distribuido en muchos tejidos como la piel, cartílago y cerebro, y tiene un rol importante en el desarrollo, curación de heridas y enfermedades [18]. El HA presenta varias ventajas importantes como candidato a la fabricación de hidrogeles, incluyendo su relevancia biológica o la posibilidad de modificar los grupos funcionales presentes en el HA para crear uniones o *crosslinking* [19]. Existen hidrogeles cuyas propiedades mecánicas pueden ser cambiadas por el fabricante que resultan útiles para estudiar la mecanotransducción celular. [20][21].

Dependiendo del crosslinker utilizado e irradiación ultravioleta, se pueden conseguir valores de rigideces desde los pocos Pa hasta 90 kPa. Se ha sembrado conjuntos

de células simulando tumores en 3D, fabricando hidrogeles de HA en varias capas, hidrogel-células-hidrogel. . [22]

En este trabajo se desarrolla una plataforma para el estudio de la interacción célula-matriz extracelular basada en hidrogeles de ácido hialurónico. Se seleccionan estos hidrogeles por sus propiedades de biocompatibilidad y porque su rigidez puede ser modificada en el rango fisiológico. En primer lugar se estudia el rango de rigideces del AH utilizando una solución de dithiothreitol en distintos % para el *crosslinking*. La rigidez se mide mediante técnicas de Microscopía de Fuerza Atómica (AFM). En segundo lugar se siembran células en 3D y se estudia su viabilidad.

2. Material y métodos.

2.1. Hidrofilización de los cubreobjetos

Se han utilizado cubreobjetos cuadrados de 18mm de lado (Fischer) sobre los cuales se deposita el gel. Los cubreobjetos son previamente tratados para favorecer la adhesión del gel sobre los mismos. Se aplica sobre los cubres una disolución de 100µl de APTS (440140 Aldrich) y 100 µl de ácido acético en 500ml de agua desionizada durante media hora. De esta forma se mejoran las propiedades hidrofílicas de los cubreobjetos. Posteriormente se realizan 3 lavados de 5 minutos en agua desionizada para eliminar cualquier resto que pueda ser potencialmente peligroso para la viabilidad celular.

2.2. Cultivo celular

Se ha trabajado con células de glioblastoma (U373) cultivadas en DMEM F12 (10% FBS y 1% penicilina-streptomycin) sobre flasks de 75 cm². Se han realizado dos pases celulares, cuando se daba un 80% de confluencia en los flask, se ha trabajado siempre tras el segundo pase. Se ha calculado una concentración final de 1000 células/40µl de gel y se ha trabajado siempre con dicha concentración.

2.3. Fabricación de los hidrogeles de ácido hialurónico

El ácido hialurónico con grupos metacrilato se ha sintetizado según el proceso de [22]. Los hidrogeles se han obtenido mediante un proceso de *crosslinking* de un único paso usando una solución de dithiothreitol (DTT, Sigma) y ácido hialurónico metacrilato. Se ha usado el péptido RGD para permitir la adhesión celular. Se ha trabajado con distintas concentraciones de DTT basándose en el número teórico de grupos metacrilato enlazados a los grupos tiol del DTT. Para la medida de la rigidez se han fabricado 3 hidrogeles para cada % de DTT, en un rango de 10% a 100% variando el porcentaje de DTT en intervalos del 10%. Las pruebas de encapsulación se han realizado con 10, 20 y 30% de DTT..

2.4. Viabilidad celular y difusión del hidrogel

Para la prueba de viabilidad se ha utilizado calceína AM no fluorescente (17783 SIGMA), que al ser absorbida por las

células vivas se transforma en calceína fluorescente (λ_{ex} 496 nm; λ_{em} 516 nm) por la actividad de las enzimas esterasas. De esta forma, únicamente aquellas células que estén metabolizando muestran fluorescencia.

Se ha realizado un barrido de concentraciones de calceína sobre células U373 sembradas en cubreobjetos de vidrio para estimar el volumen mínimo de calceína necesario. Las concentraciones utilizadas han sido de 1 µM, 5 µM y 10 µM, que están dentro del rango de trabajo estipulado por el fabricante.

Para el ensayo de viabilidad en geles se ha utilizado una disolución 2 µM de calceína en medio de cultivo DMEM F12 en la que se han sumergido los geles 24 horas después de que haya finalizado la gelificación. La difusión, aunque no se ha cuantificado, se ha podido observar ya que la calceína se añade únicamente en el medio externo al hidrogel.

Para la adquisición de imágenes se ha utilizado un microscopio LEICA DM IL LED junto con una cámara LEICA DFC295. El software utilizado para la adquisición de las imágenes ha sido Leica Application Suite V4. Todas las imágenes de viabilidad celular han sido tomadas 24 horas después de la gelificación de los geles.

2.5. Cálculo del módulo elástico efectivo mediante Microscopía de Fuerza Atómica, AFM.

Se ha utilizado el Microscopio de Fuerza Atómica (AFM) Nanowizard®3 Nanoscience (JPK) y el software (JPKSPM Data Processing) para calcular el módulo elástico efectivo de los geles de ácido hialurónico mediante espectroscopía de fuerza. Se han utilizado puntas esféricas de 5µm de diámetro pegadas a la punta de un cantilever MLCT-0 (BRUKER) cuya constante elástica se ha calibrado previo a cada medida. Se han obtenido 20 curvas de fuerza por gel en un área de 25 µm². El módulo elástico efectivo de los hidrogeles ha sido calculado siguiendo el modelo de Hertz para puntas esféricas [23]:

$$F = \frac{E}{1 + \nu^2} \left[\frac{a^2 + R^2}{2} \ln \frac{R + a}{R - a} \right] - aR$$

Ecuación 1 Modelo de Hertz para puntas esféricas

En esta ecuación F es la fuerza aplicada, E el módulo elástico efectivo, ν el coeficiente de Poisson 0,5 a es el radio del círculo de contacto y R es el radio de la punta.

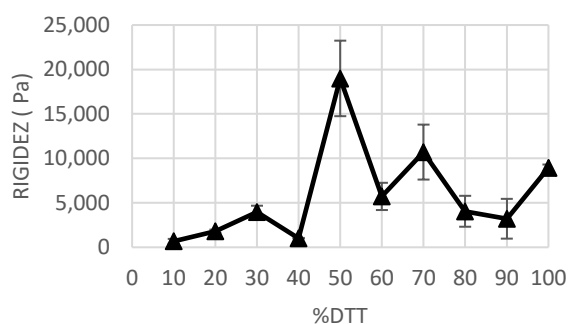
3. Resultados y discusión.

3.1. Rigidez de los hidrogeles de HA en función del contenido de DTT

La Tabla 1 y la gráfica 1 muestran los módulos elásticos efectivos medidos en los hidrogeles con distintos porcentajes de DTT. Se observa que el módulo elástico de los geles aumenta inicialmente desde un mínimo de 676 Pa en geles con un 10% de consumo de DTT hasta un máximo de 18.995 Pa en geles con un 50% de consumo de DTT. Estos valores comprenden un rango fisiológico desde valores cercanos al tejido pulmonar (676 Pa) hasta valores que comprenden a tejidos musculoesqueléticos (12.000 Pa) [24].

Porcentaje de DTT	Módulo Elástico Efectivo (Pa)
10	676 ± 269
20	1.817 ± 172
30	3.965 ± 712
40	1.016 ± 37
50	18.995 ± 4.248
60	5.724 ± 1.531
70	10.709 ± 3.090
80	4.052 ± 1.738
90	3.212 ± 2.237

Tabla 1 Módulo elástico efectivo (media y desviación estándar) de los hidrogeles de HA medida mediante espectroscopía de fuerza en el AFM para distintos porcentajes de DTT.



Gráfica 1 Resultado de las medidas de rigidez de los geles según aumenta el porcentaje de DTT. Una vez alcanzado el pico de rigidez para el 50% de de DTT, la rigidez cae y oscila al aumentar el % de DTT. . Esto es debido a que cada molécula de DTT une 2 grupos metacrilato del ácido hialurónico. En el 50% hay 1 molécula de DTT por cada 2 de hialurónico y, la disolución se supone completamente saturada. Sin embargo, si se aumenta el volumen de DTT, los grupos metacrilato pueden reaccionar con el DTT pero de moléculas distintas. De esta forma dos grupos metacrilato no estarían unidos por la misma molécula de DTT quedando ambos libres [22].

3.2. Viabilidad celular y difusión del hidrogel

Tras el primer barrido de concentraciones de calceína sobre células sembradas en vidrio se observó que una concentración 1 μ M era suficiente para obtener respuesta fluorescente por parte de las células vivas (figura 1). Además, al aumentar la concentración aumenta también el ruido generado en la imagen debido al exceso de fluorescencia provocado por la cantidad de reactivo

utilizado. No obstante, dado que la calceína no iba a estar en contacto directo con las células se ha decidido utilizar una concentración 2 μ M para asegurar que por difusión llega suficiente reactivo a las células.

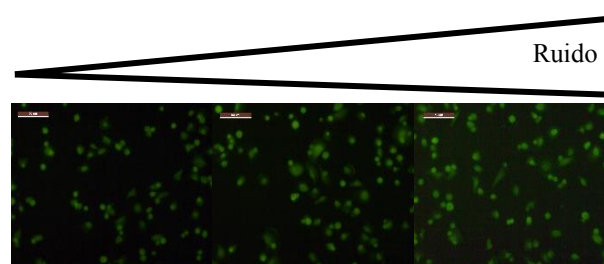


Figura 1 Imágenes de fluorescencia de células de glioblastoma U373 sembradas sobre vidrio cubiertas con una disolución de calceína en DMEM F12 a las siguientes concentraciones. Izquierda 1 μ M, centro 5 μ M, derecha 10 μ M.

En el caso de las células embebidas en los hidrogeles, éstas muestran fluorescencia a los 45 minutos de sumergir los hidrogeles en la disolución de calceína en DMEM F12. En la figura 2 se muestran imágenes de un mismo grupo de células en campo claro y en fluorescencia. En la imagen en campo claro se puede observar más de una célula. Sin embargo, al pasar a fluorescencia, únicamente una de las células está expresando fluorescencia: la célula viva. De esta forma se confirma que únicamente las células que presentan actividad metabólica son las que emiten fluorescencia.



Figura 2 Prueba de viabilidad de células en hidrogeles de HA en 3D. Izquierda, imagen de fluorescencia. Derecha, imagen en campo claro.

La figura 3 muestra una comparación entre imágenes de fluorescencia y campo claro para las mismas células a distintos porcentajes de DTT. Para los tres % de DTT, 10, 20 y 30%, se observan células emitiendo fluorescencia, lo cual nos indica que las células están vivas tras 24 horas en el gel y por tanto han sobrevivido al proceso de gelificación, y además el medio añadido sobre el hidrogel ha difundido a través de éste. Por otra parte, las células muestran un aspecto redondeado, con lamelipodios, aspecto típico de las células embebidas en un hidrogel (3D) y adheridas al mismo. Efectivamente, en las figuras 1 y 2, en las cuales las células están sobre el vidrio (figura 4) y por tanto en 2D, las células adheridas al sustrato aparecen extendidas.

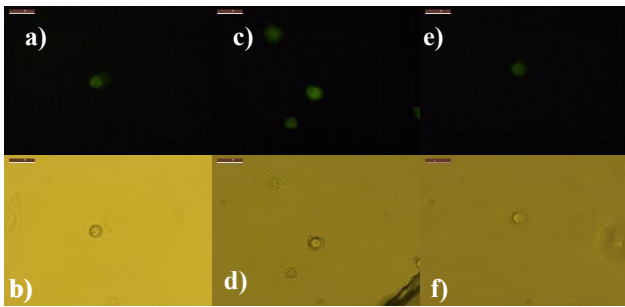


Figura 3 Células suspendidas en 3D en geles de HA con distinto porcentaje de DTT: 10 % DTT ((a) imagen de fluorescencia, (b) imagen de campo claro), 20% DTT ((c) imagen de fluorescencia, (d) imagen de campo claro) y 30% DTT ((e) imagen de fluorescencia, (f) imagen de campo claro). Barras de escala de 50 micras.

Finalmente cabe destacar, de la comparación entre imágenes de campo claro y fluorescencia, que la mayoría de las células presentes en los hidrogeles de HA una vez transcurridas 24 horas desde la gelificación están vivas y adheridas a la matriz.

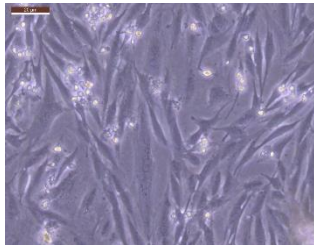


Figura 4 Células sembradas en 2D.

4. Conclusiones

Se ha desarrollado una plataforma de sembrado de células en 3D para estudiar las interacciones célula-matriz extracelular para distintas rigideces del microentorno. La plataforma consiste en hidrogeles de ácido hialurónico con rigidez variable desde 700 Pa a 19000 Pa, abarcando así un gran rango de rigideces relevantes fisiológicamente. Tras 24 horas embebidas en los hidrogeles de ácido hialurónico las células siguen vivas y adheridas a la matriz, lo cual muestra que las células sobreviven al proceso de gelificación y que los hidrogeles son un entorno viable para las células. Además, se ha probado que el medio de cultivo difunde en el hidrogel alargando la esperanza de vida de las células. En resumen, la plataforma desarrollada es un buen modelo para el estudio de la interacción célula-matriz extracelular que reproduce la rigidez de los tejidos.

5. Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero del Ministerio de Economía y Competitividad a través del programa ‘Retos de la Sociedad’ (TEC 2013-48552-C2-2R) y de la Consejería de Educación, Política Lingüística y Cultura del gobierno Vasco (PI 2015-044). M.S. está apoyado por el Ministerio de Economía y Competitividad a través del

programa ‘Ayudas para contratos predoctorales para la formación de doctores’ (BES-2014-070256).

6. Referencias

- [1] M. G. Haugh and S. C. Heilshorn, “Integrating concepts of material mechanics, ligand chemistry, dimensionality and degradation to control differentiation of mesenchymal stem cells,” *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.*, vol. 20, no. 4, pp. 1–9, 2016.
- [2] H. Y. Kim, T. R. Jackson, and L. A. Davidson, “On the role of mechanics in driving mesenchymal-to-epithelial transitions,” *Semin. Cell Dev. Biol.*, pp. 1–10, 2016.
- [3] P. Roca-Cusachs, R. Sunyer, and X. Trepat, “Mechanical guidance of cell migration: Lessons from chemotaxis,” *Curr. Opin. Cell Biol.*, vol. 25, no. 5, pp. 543–549, 2013.
- [4] L. Cassereau, Y. A. Miroshnikova, G. Ou, J. Lakins, and V. M. Weaver, “A 3D tension bioreactor platform to study the interplay between ECM stiffness and tumor phenotype,” *J. Biotechnol.*, vol. 193, pp. 66–69, 2015.
- [5] S. Begnaud, T. Chen, D. Delacour, R. M. M??ge, and B. Ladoux, “Mechanics of epithelial tissues during gap closure,” *Curr. Opin. Cell Biol.*, vol. 42, pp. 52–62, 2016.
- [6] M. Vicente-Manzanares and a. R. Horwitz, “Adhesion dynamics at a glance,” *J. Cell Sci.*, vol. 124, no. 23, pp. 3923–3927, 2011.
- [7] I. Andreu, T. Luque, A. Sancho, B. Pelacho, O. Iglesias-Garcia, E. Melo, R. Farré, F. Prósper, M. R. Elizalde, and D. Navajas, “Heterogeneous micromechanical properties of the extracellular matrix in healthy and infarcted hearts,” *Acta Biomater.*, vol. 10, no. 7, pp. 3235–3242, 2014.
- [8] M. Plodinec, M. Loparic, C. a Monnier, E. C. Obermann, R. Zanetti-Dallenbach, P. Oertle, J. T. Hyotyla, U. Aebi, M. Bentires-Alj, R. Y. H. Lim, and C.-A. Schoenenberger, “The nanomechanical signature of breast cancer,” *Nat. Nanotechnol.*, vol. 7, no. 11, pp. 757–65, 2012.
- [9] S. R. Caliali and J. A. Burdick, “A practical guide to hydrogels for cell culture,” *Nat. Methods*, vol. 13, no. 5, pp. 405–14, 2016.
- [10] N. Huebsch, P. R. Arany, A. S. Mao, D. Shvartsman, O. a Ali, S. a Bencherif, J. Rivera-feliciano, and D. J. Mooney, “NIH Public Access,” vol. 9, no. 6, pp. 518–526, 2010.
- [11] M. D. Shoulders and R. T. Raines, “Collagen Structure and Stability,” *Annu Rev Biochem*, vol. 78, pp. 929–958, 2010.
- [12] A. D. Doyle, N. Carvajal, A. Jin, K. Matsumoto, and K. M. Yamada, “Local 3D matrix microenvironment regulates cell migration through spatiotemporal dynamics of contractility-dependent adhesions,” *Nat. Commun.*, vol. 6, p. 8720, 2015.
- [13] M. Ventre and P. Netti, “Controlling Cell Functions and Fate with Surfaces and Hydrogels: The Role of Material Features in Cell Adhesion and Signal Transduction,” *Gels*, vol. 2, no. 1, p. 12, 2016.
- [14] C. K. Kuo and R. S. Tuan, “Mechanoactive tenogenic differentiation of human mesenchymal stem cells,” *Tissue Eng. Part A*, vol. 14, no. 10, pp. 1615–27, 2008.
- [15] M. Y. Ali, C.-Y. Chuang, and M. T. A. Saif, “Reprogramming Cellular Phenotype by Soft Collagen Gels,” *Soft Matter*, vol. 10, no. 44, pp. 8829–8837, 2014.
- [16] W. R. Legant, J. S. Miller, B. L. Blakely, D. M. Cohen, G. M. Genin, and C. S. Chen, “Measurement of mechanical tractions exerted by cells in three-dimensional matrices,” *Nat. Methods*, vol. 7, no. 12, pp. 969–971, 2010.
- [17] MEYER K., “Chemical structure of hyaluronic acid,” no. 17(4), p. :1075-, 1958.
- [18] J. R. Fraser, T. C. Laurent, and U. B. Laurent, “Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover,” *J. Intern. Med.*, vol. 242, pp. 27–33, 1997.
- [19] J. a. Burdick and G. D. Prestwich, “Hyaluronic acid hydrogels for biomedical applications,” *Adv. Mater.*, vol. 23, no. 12, pp. 41–56, 2011.
- [20] S. Khetan, M. Guvendiren, W. R. Legant, D. M. Cohen, S. Christopher, and J. A. Burdick, “NIH Public Access,” vol. 12, no. 5, pp. 458–465, 2013.
- [21] M. Guvendiren and J. a Burdick, “Stiffening hydrogels to probe short- and long-term cellular responses to dynamic mechanics,” *Nat. Commun.*, vol. 3, p. 792, 2012.
- [22] B. Ananthanarayanan, Y. Kim, and S. Kumar, “Elucidating the mechanobiology of malignant brain tumors using a brain matrix-mimetic hyaluronic acid hydrogel platform,” *Biomaterials*, vol. 32, no. 31, pp. 7913–7923, 2011.
- [23] T. Neumann, “Determining the elastic modulus of biological samples using atomic force microscopy,” *JPK Instruments Appl. Rep.*, pp. 1–9, 2008.
- [24] T. R. Cox and J. T. Erler, “Remodeling and homeostasis of the extracellular matrix: implications for fibrotic diseases and cancer,” *Dis. Model. Mech.*, vol. 4, no. 2, pp. 165–78, 2011.

Imágenes Biomédicas 3

Jueves 24 de Noviembre

Localización automática de la papila y la fovea en retinografías

R. Romero Oraá¹, M. García Gadañón¹, M. I. López Gálvez^{2,3}, F. Manco Lavado², R. Hornero Sánchez¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, roberto.romero@gib.tel.uva.es, {margar,robhor}@tel.uva.es

² IOBA (Instituto de Oftalmobiología Aplicada), Universidad de Valladolid, felixmancolavado@gmail.com

³ Hospital Clínico Universitario de V, maribel@ioba.med.uva.es

Resumen

La detección de estructuras oculares es una tarea importante en el análisis de retinografías para el diagnóstico de diversas enfermedades. La localización de la papila y de la fovea es trascendental para la detección de lesiones en la retina. En este trabajo se han propuesto dos métodos automáticos de localización de la papila y la fovea. El primer método se basó en la apariencia brillante y circular que caracteriza la papila así como en la posición de los principales vasos sanguíneos, que discurren verticalmente por ella. Para el método de localización de la fovea, se consideró la pigmentación oscura de la zona macular y su distancia a la papila. Se utilizaron 159 retinografías separadas en un grupo de entrenamiento (80 imágenes) y en uno de test (79 imágenes). La precisión alcanzada para ambos métodos fue del 100% permitiendo una distancia de error máxima equivalente a un radio de papila. Los resultados obtenidos indican que los métodos propuestos son útiles para detectar las dos estructuras oculares mencionadas en retinografías.

1. Introducción

La detección de la papila y la fovea en retinografías es un aspecto importante en la detección automática de enfermedades retinianas. Junto con la vasculatura, son los puntos anatómicos de referencia más importantes del polo posterior de la retina [1]. Algunas partes de la papila pueden ser incorrectamente clasificadas como lesiones por su similitud. Adicionalmente, su localización es útil para el seguimiento del glaucoma y para la detección de neovasos en la misma [2]. Por otro lado, la fovea es la región central de la mácula y responsable de la máxima agudeza visual [3]. Debido a su importante función en la visión, las lesiones cercanas a ella tienen una gran relevancia clínica [3].

Para detectar la papila, algunos estudios se basaron en el rastreo de los vasos sanguíneos [4], lo que requiere una buena visibilidad de los mismos. Otros autores emplearon la técnica *template matching*, modelando la papila como un objeto circular o elíptico [4]. Otras técnicas se fundamentaron en el trazado de contornos y en modelos de contornos activos para identificar la región que abarca la papila [4]. También se pueden encontrar en la literatura métodos basados en *machine learning* para detectar la papila considerando características tales como el color, la iluminación y el contraste [4]. Del mismo modo, otros autores usaron umbralización multinivel [4]. Finalmente, existen trabajos previos en los que se combinan varias de

las técnicas descritas anteriormente para la localización de la papila [1,5].

En relación a la detección de la fovea, los métodos propuestos en la literatura se basan fundamentalmente en su relación espacial con la papila [7], en la ausencia de grandes vasos dentro de la mácula [6] y en su color oscuro [7]. Asimismo, en algunos estudios se utilizaron también la técnica *template matching* [1], morfología matemática [8] y umbralización [9].

En este trabajo se proponen dos nuevos métodos de procesado de imagen para la detección de la papila y la fovea en retinografías. Ambos métodos se basan en la técnica *template matching*, dado que estas estructuras presentan una apariencia similar en todas las retinografías. Esta técnica se complementa con operaciones de morfología matemática y umbralización no empleadas en estudios previos para estas tareas. El método de detección de la papila tiene en cuenta la posición de los principales vasos sanguíneos que discurren verticalmente por ella. El método de localización de la fovea considera la distancia, aproximadamente constante, hasta el centro de la papila.

2. Base de datos de retinografías

Se empleó una base de datos (BD) de 159 retinografías proporcionadas por Aplicada (IOBA) de la Universidad de Valladolid. Fueron capturadas con el retinógrafo no midriático automático TRC-NW400 con un campo de visión (FOV) de 45°. Las imágenes tenían una resolución de 1956×1934 píxeles en formato JPEG de 24 bits y pertenecían tanto a pacientes sin patologías oculares (142 imágenes) como a pacientes con signos de retinopatía diabética (RD) y oclusiones vasculares (17 imágenes). La BD se dividió en un conjunto de entrenamiento (80 imágenes) y en un conjunto de test (79 imágenes). Un oftalmólogo especialista marcó manualmente el centro de la papila y la fovea para todas las imágenes.

3. Métodos

3.1. Pre-procesado

Esta etapa se divide en 4 pasos. En primer lugar, se creó una máscara del área efectiva de la retina hallando la circunferencia que separa el FOV del borde negro circundante. Partiendo de la imagen original, I_{orig} , (Figura 1(a)), se estimó el diámetro de esta circunferencia

midiendo la distancia entre el máximo y el mínimo de la derivada del perfil de intensidad a lo largo de una diagonal de la componente roja de I_{orig} . El centro de la circunferencia se obtuvo aplicando la transformada de Hough [10]. En segundo lugar, se eliminaron los bordes negros de la periferia de la imagen para reducir el tiempo de procesado, obteniéndose así la imagen I_{rec} . A continuación, se eliminaron las regiones brillantes que presentan algunas imágenes en la periferia del FOV por defectos de iluminación asociados a la captura de la imagen. Para ello, se consideró un anillo exterior de I_{rec} , de grosor un décimo del radio del círculo de la FOV y se aplicó una umbralización. Por último, se redimensionó la imagen a un tamaño de 500×500 píxels para reducir el tiempo de procesado, obteniéndose la imagen $I_{preproc}$ [1,6].

3.2. Localización de la papila

Para la localización de la papila se propuso un método con 3 pasos:

- Extracción de regiones brillantes: Se partió de la componente verde de $I_{preproc}$, I_{G_reproc} , puesto que es la que ofrece mayor contraste entre las estructuras y el fondo de ojo [5]. En primer lugar, se estimó el fondo con un filtro de media de tamaño 65 píxels (I_{fondo}) [11]. A continuación se realizaron las siguientes operaciones para obtener la imagen I_{brill} , en la que se realzan las regiones brillantes de la imagen [11]:

$$I_{resta_fondo} = I_{G_preproc} - I_{fondo} \quad (1)$$

$$I_{brill} = \begin{cases} I_{resta_fondo}, & I_{resta_fondo} \geq 0 \\ 0, & I_{resta_fondo} < 0 \end{cases} \quad (1)$$

Posteriormente se aplicó *template matching* para localizar la papila en I_{brill} . Como plantilla se utilizó un círculo blanco de 45 píxels, que es el diámetro aproximado de la papila en las imágenes de nuestra BD. El resultado de esta operación es un mapa de correlación, I_{corr} , que muestra una estimación de la probabilidad de cada píxel de ser el centro de la papila. Esta imagen se normalizó y se umbralizó para generar una máscara, M_{brill} , con las regiones candidatas a ser la papila (Figura 1(b)). El umbral elegido fue 0.75 teniendo en cuenta el grupo de entrenamiento.

- Detección gruesa de los vasos principales: Partiendo de nuevo de I_{G_reproc} , se halló su complemento, I_{comp} . De la misma forma que para el paso anterior, se estimó el fondo de I_{comp} , se restó el fondo según (1) y se eliminaron los valores negativos empleando (2). Así, se obtiene la imagen I_{osc} , que representa las regiones oscuras de la imagen. Para la detección de los vasos principales se utilizaron varios filtros de línea básicos. Con este tipo de filtros se evalúa en nivel medio de gris a lo largo de líneas de longitudes fijas para un ángulo determinado. La operación de filtrado asigna un nivel de intensidad elevado a los píxels de la imagen que se corresponden con líneas de esa longitud y ángulo [12]. En el método propuesto, se aplicaron detectores de línea en las

direcciones verticales (88° , 90° y 92°) y con longitudes de 21, 24 y 27 píxels. La combinación de estos parámetros generó 9 imágenes. Se calculó el máximo entre ellas para cada píxel y se obtuvo la imagen I_{vp} , en la que se remarcaron adecuadamente los vasos principales. Para realzar aún más estos vasos, se eliminaron algunas regiones detectadas erróneamente como líneas delgadas y que, generalmente, pertenecen a estructuras más extensas como la mácula. Para ello, se aplicó una apertura morfológica sobre I_{vp} con un elemento estructurante circular de 10 píxels de diámetro. A continuación se restó esta imagen de I_{vp} , obteniendo una imagen donde los vasos principales aparecen más realzados, I_{vp_mej} . Sobre ésta se aplicó una umbralización (umbral=0.6, obtenido sobre las imágenes de entrenamiento) para obtener una máscara de los vasos principales. Finalmente, se aplicó un cierre morfológico sobre esta máscara con un disco de 25 píxels de diámetro con el objetivo de unir las regiones fragmentadas tras la umbralización. Esto produce la máscara M_v (Figura 1(c)). En los casos en los que se detectaron varias regiones, se consideró únicamente la de mayor área.

- Combinación de la información: En algunos casos, en M_{brill} se obtuvieron varias regiones candidatas a ser la papila. En estos casos, se escogió la región cuyo centroide estuviese más cerca del centroide de M_v . Cabe señalar que el centroide de la región escogida no se correspondía exactamente con el centro de la papila, sino con el centro de la excavación, que es la parte más intensa de la misma. Para detectar correctamente el centro de la papila se consideró la información acerca de los vasos principales de M_v . Para ello se calculó M_{v_corr} como:

$$M_{v_corr} = M_{brill} \text{ AND } M_v \quad (3)$$

El centro de la papila definitivo se calculó hallando el punto medio de los centroides de M_{brill} y M_{v_corr} (Figura 1(d)).

3.3. Localización de la fovea

El método propuesto se dividió en 3 pasos:

- Extracción de regiones oscuras: Se partió de la imagen I_{osc} obtenida anteriormente, que recogía todos los píxels oscuros de la imagen. De ellos, se deseaba tener en cuenta sólo aquellos que formasen una agrupación suficientemente grande. Para eliminar las regiones de tamaño pequeño, se aplicó una apertura morfológica sobre la imagen I_{osc} con un elemento estructurante circular de 5 píxels de diámetro. La imagen resultante, I_{osc_gran} contenía por tanto las regiones oscuras y grandes de la imagen. Para seleccionar la fovea de entre ellas, se aplicó *template matching*. Para ello, se calculó la correlación entre I_{osc_gran} y un círculo blanco de 10 píxels de radio, que es el tamaño aproximado del radio de la fovea de las imágenes de nuestra BD. La imagen resultante, I_{corr} , se puede observar en la Figura 2(a), donde se muestra el resultado de la correlación

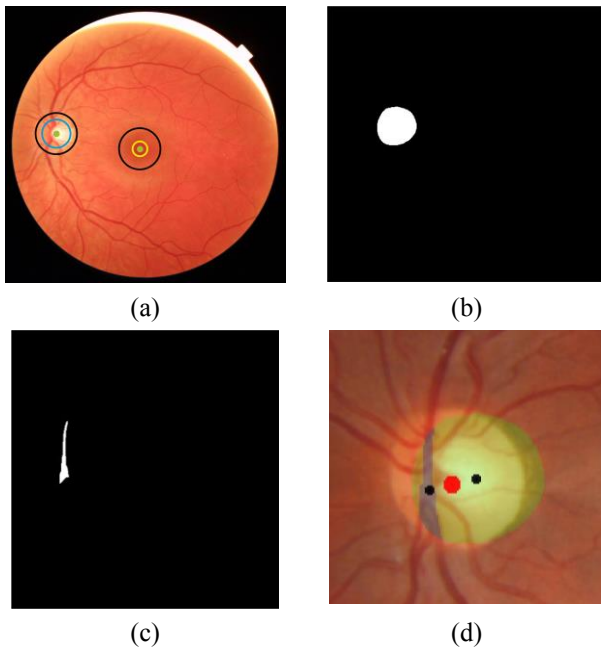


Figura 1. Pasos del método de localización de la papila. (a) Imagen original, indicando los centros marcados por el oftalmólogo (verde) y las distancias de error de 160 píxels (negro), 110 píxels (azul) y 60 píxels (amarillo). (b) Máscara M_{brill} . (c) Máscara M_v . (d) Centroides de las máscaras M_{brill} y M_v en negro y su punto medio en rojo.

tridimensionalmente y superpuesto sobre la retinografía original.

- Definición de la ROI en base a la distancia papila-fóvea: La fóvea se encuentra a una distancia aproximadamente constante de la papila para todas las retinografías [6]. En este trabajo se propuso estudiar empíricamente esta medida. Hasta donde tenemos conocimiento, esta tarea no se ha abordado en estudios previos. En la Figura 2(b) se muestra la distribución de las distancias entre los centros de la papila y la fóvea de todas las imágenes del conjunto de entrenamiento de nuestra BD. Esta distribución se modeló como una función gaussiana de media 642.20 píxels y desviación típica 34.96 píxels. De esta forma, se puede generar un anillo, I_{an} , cuya intensidad se rige por este modelo. Si se hace coincidir el centro de dicho anillo con el centro de la papila (obtenido anteriormente) se puede delimitar la región en la que se encuentra la fóvea (Figura 2(c)).
- Combinación de la información: Para obtener la localización final de la fóvea, se combinaron I_{corr} e I_{an} mediante la operación de multiplicación (Figura 2(d)). La imagen resultante, $I_{fóvea}$, se normalizó para ocupar todo el rango posible de valores de intensidad y mejorar la visualización de esta estructura. La imagen normalizada, $I_{fóvea_n}$, se umbralizó (umbral=0.95, obtenido sobre el conjunto de entrenamiento) para obtener una máscara de la fóvea, $M_{fóvea}$. En los casos en los que $M_{fóvea}$ contenía varias regiones, se consideró únicamente la región de mayor tamaño. El centro de la fóvea se calculó como el centroide de la región finalmente detectada.

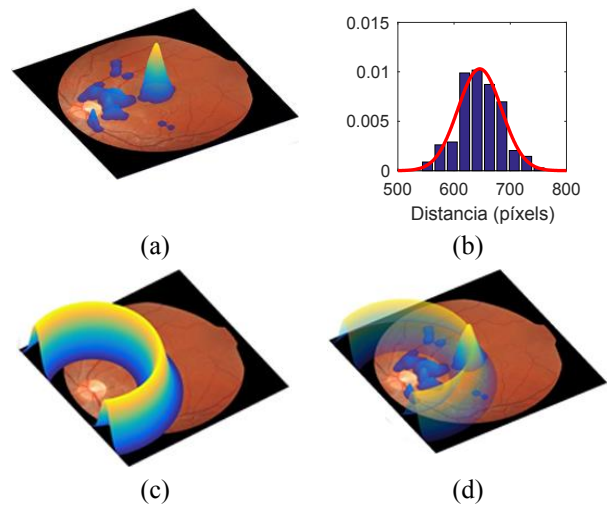


Figura 2. Pasos del método de localización de la fóvea. (a) Representación tridimensional de I_{corr} . (b) Distribución de las distancias entre papila y fóvea para las imágenes de entrenamiento. (c) Representación tridimensional de I_{an} centrado en la papila. (d) Superposición de I_{corr} e I_{an} .

4. Resultados

Los métodos propuestos se evaluaron sobre el conjunto de test para obtener los centros de la papila y la fóvea. La precisión de los métodos se evaluó comparando la localización del centro estimado con el centro anotado por el oftalmólogo. Para ello, se midió la distancia euclídea entre ambos centros (distancia de error). Se consideró que la detección había sido correcta si esta distancia de error no superaba un cierto valor [1,5,7,8]. En la Figura 3 se muestra la precisión obtenida con los métodos propuestos para distintos límites en la distancia de error.

Como se observa en la Figura 3(a), en relación al método de localización de la papila, a partir de un límite de distancia de error de 110 píxels se obtuvo una precisión del 100%. En otros trabajos se consideró que la detección era correcta si la distancia de error era menor que un radio de papila [1,5]. En este estudio se estimó el radio de la papila como un sexto del radio de la FOV [5]. Esto correspondía a 160 píxels en las imágenes de nuestra BD. Considerando este modo de evaluación, la precisión obtenida fue del 100%.

En cuanto al método de localización de la fóvea, puede observarse en la Figura 3(b) que a partir de los 60 píxels de distancia de error la precisión obtenida fue del 100%. Igual que en el caso anterior, en otros estudios se consideró una máxima distancia de error de un radio de la papila [1,7,8]. Siguiendo esta forma de evaluación, la precisión del método propuesto alcanzó el 100%.

5. Discusión y conclusiones

En este trabajo se han propuesto dos métodos para la detección de la papila y la fóvea en retinografías. En su implementación se tuvieron en cuenta las características de color y forma de estas estructuras. Asimismo, se consideró la relación espacial entre los principales elementos anatómicos de la retina: la papila, la fóvea y las arcadas vasculares. Los métodos propuestos combinaron

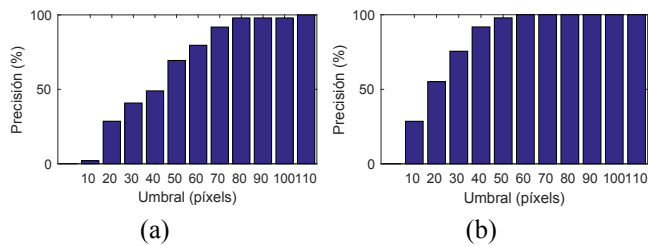


Figura 3. Precisión de los métodos en función de la máxima distancia de error permitida. (a) Método de localización de la papila. (b) Método de localización de la fovea.

template matching con operaciones de morfología y umbralización que, hasta donde tenemos conocimiento, no se han empleado previamente en este contexto.

Los resultados obtenidos con los métodos propuestos alcanzaron el 100% de precisión sobre el conjunto de test de la BD para un umbral de 160 píxeles en la distancia de error. Esta es la máxima distancia de error considerada en estudios previos para determinar una detección correcta [1,5,7,8]. En este trabajo se obtiene una precisión del 100%, incluso considerando umbrales menores en la distancia de error (110 píxeles en el caso de la papila y 60 píxeles en el caso de la fovea). Estos resultados son similares a los presentados en otros trabajos (entre el 87% y el 99% de precisión considerando una distancia de error de un radio de papila [1,5,7]). No obstante, la comparación debe hacerse con precaución debido a la heterogeneidad de las BD consideradas en los diferentes trabajos.

El método propuesto tiene también algunas limitaciones que es necesario mencionar. Para la localización de la papila se consideró únicamente la detección de su centro. Esto es suficiente en un contexto en el que se pretende eliminarla como posible lesión brillante. Así, bastaría con aproximar su contorno por una circunferencia [10]. Algunos autores consideran también la localización exacta del borde de la papila, tarea importante en la ayuda al diagnóstico de algunas enfermedades oculares como el glaucoma. En futuros estudios trataremos de mejorar el método propuesto incluyendo también la localización exacta del contorno de la papila. La principal limitación en la localización de la fovea proviene de la necesidad de conocer previamente la localización de la papila. El conocimiento *a priori* sobre la distancia entre ambas estructuras oculares ha permitido mejorar la precisión en la localización de la fovea. No obstante, si la papila no se detectase correctamente, la detección de la fovea sería errónea. Asimismo, algunos parámetros utilizados están adaptados a la BD utilizada con lo que sería necesario verificar su utilidad sobre nuevas imágenes. Finalmente, sería deseable obtener resultados sobre una BD más amplia que incluyese más casos de pacientes con y sin patologías oculares, para verificar los resultados y analizar las posibilidades de generalización del método.

Los resultados obtenidos permiten concluir que los métodos propuestos permiten detectar la papila y la fovea de forma precisa. De este modo, podrían emplearse como parte de algoritmos más generales de ayuda al diagnóstico de diversas patologías oculares.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos TEC2014-53196-R y RTC-2015-3467-1 del Ministerio de Economía y Competitividad y FEDER y por el proyecto VA037U16 de la Consejería de Educación (Junta de Castilla y León).

Referencias

- [1] Niemeijer M, Abràmoff MD, Ginneken B. Fast detection of the optic disc and fovea in color fundus photographs. *Medical Image Analysis*, vol. 13, no. 6, 2009, pp. 859–70.
- [2] Abràmoff MD, Alward WLM, Greenlee EC, Shuba L, Kim CY, Fingert JH, and Kwon YH. Automated Segmentation of the Optic Disc from Stereo Color Photographs Using Physiologically Plausible Features. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 48, no. 4, 2007, pp. 1665-73.
- [3] Giancardo L, Meriaudeau F, Karnowski TP, Chaum E, Tobin T. Quality Assessment of Retinal Fundus Images using ELVD. *New Developments in Biomedical Engineering*, 2010, pp. 201–224.
- [4] Duanggate C, Uyyanonvara B, Makhanov SS, Barman S, Williamson T. Parameter-free optic disc detection. *Computerized Medical Imaging and Graphics*, vol. 35, no. 1, 2011, pp. 51–63.
- [5] Hsiao HK, Liu CC, Yu CY, Kuo SW, and Yu SS. A novel optic disc detection scheme on retinal images. *Expert Systems with Applications*, vol. 39, no. 12, 2012, pp. 10600–10606.
- [6] Medhi JP, Dandapat S. Automatic detection of fovea using property of vessel free región. *21st National Conference on Communications (NCC)*, 2015, pp. 1-6.
- [7] García M, Zheng Y, López MI, Criddle T, Harding S, Hornero R. Detection of the fovea in colour fundus images based on search area localisation and local feature extraction. *Ophthalmic Image Analysis Workshop, Proceedings of the Ophthalmic Image Analysis Workshop*, 2011, pp. 15-20.
- [8] Samanta S, Saha SK, Chanda B. A simple and fast algorithm to detect the fovea region in fundus retinal image. *Second International Conference on Emerging Applications of Information Technology*, 2011, pp. 206–209.
- [9] Sekhar S, El-Samie F, Yu P, Al-Nuaimy W, Nandi A. Automated localisation retinal features. *Applied Optics*, vol. 50, no. 19, 2011, pp. 3064–75.
- [10] Sánchez CI, García M, Mayo A, López MI, Hornero R. Retinal image analysis based on mixture models to detect hard exudates. *Medical Image Analysis*, vol. 13, no. 4, 2009, pp. 650-8.
- [11] Welikala RA, Fraz MM, Foster PJ, Whincup PH, Rudnicka AR, Owen CG, Strachan CP, Barman SA. Automated retinal image quality assessment on the UK Biobank dataset for epidemiological studies. *Computers in Biology and Medicine*, vol. 71, 2016, pp. 67–76.
- [12] Ricci E, Perfetti R. Retinal Blood Vessel Segmentation Using Line Operators and Support Vector Classification. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 26, no. 10, 2007, pp. 1357–65.

Una implementación Eficiente No Paralela de Secuencias de Resonancia Magnética mediante Matrices *Sparse*

Daniel Treceño-Fernández¹, Juan Calabia del Campo², Rodrigo De Luis García¹, Carlos Alberola-López¹

¹ Laboratorio de Procesado de Imagen (LPI), Universidad de Valladolid; ² Universidad Europea Miguel de Cervantes

Abstract

La simulación de secuencias de resonancia magnética es una herramienta imprescindible para múltiples aplicaciones educativas y en el desarrollo de nuevas aplicaciones y modalidades de resonancia, pero su elevado coste computacional impide una utilización más generalizada. En este trabajo se propone un método para una implementación acelerada basada en el uso de matrices *sparse*. Los resultados obtenidos para una secuencia EPI spin echo muestran una aceleración considerable en la simulación de la reconstrucción de una imagen con artefactos como la inhomogeneidad de campo.

Keywords: Resonancia, Secuencias, Matrices *sparse*

1. Introducción

En resonancia magnética, una simulación detallada de las secuencias incluyendo un seguimiento de la magnetización a lo largo del desarrollo de la secuencia es necesaria, entre otras cosas, para la simulación de artefactos como las inhomogeneidades de campo, desplazamiento químico, imperfección en los gradientes y otros [1,2]. Sin embargo, el elevadísimo coste computacional de este tipo de simulaciones de secuencias impide su uso generalizado, y ha originado la aparición de múltiples alternativas. Entre ellas están la simulación compartimentada empleando el formalismo del espacio K [3], el uso de alternativas a la suma de componentes isocromáticas [4] o, más recientemente, esquemas paralelos [5] o sistemas basados en unidades gráficas de procesado (GPUs) [6].

En este artículo, aún siendo conscientes de estas propuestas ambiciosas, buscamos un planteamiento sencillo para el prototipado de secuencias por parte de programadores no expertos en procesado paralelo. Para ello emplearemos matrices *sparse* de forma natural al llevar a cabo operaciones de rotación sobre vectores apilados, de manera que se eviten bucles innecesarios así como unos requisitos de almacenamiento en memoria prohibitivos.

En lo que sigue haremos una descripción sobre una secuencia basada en spin-echo y con un recorrido del espacio K similar al empleado en una secuencia EPI (echo planar imaging). Todas estas operaciones pueden llevarse a cabo de manera sencilla mediante operaciones matriciales [7]. Para ilustrar el método propuesto, se mostrarán resultados

correspondientes a la reconstrucción de imagen utilizando el procedimiento propuesto o una implementación secuencial tradicional.

2. Métodos

2.1. Spin echo monoeco

Planteamos el desarrollo para una secuencia básica, como es la secuencia spin-echo [8]. Otras secuencias seguirían unos pasos similares a los aquí descritos. La Figura 1 muestra un esquema de la secuencia. Yendo paso a paso, tendríamos:

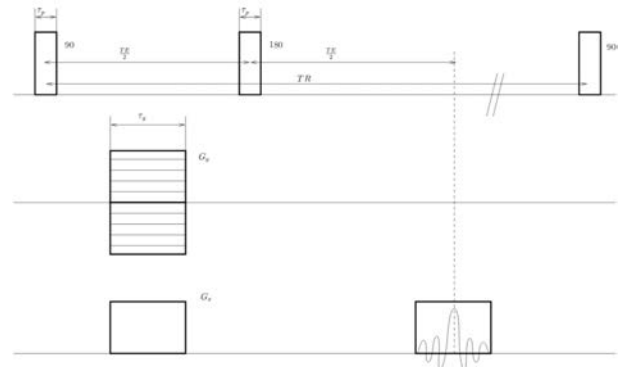


Figura 1. Diagrama de la secuencia spin-echo

1.-Pulso de 90, de duración τ_p segundos y amplitud constante B_1 . Si existe una inhomogeneidad de campo $\Delta B(\vec{r})$, que sea función de cada punto del volumen excitado, tendremos un efecto *off-resonance* [8] a tener presente; en primer lugar, el valor de B_1 debe calcularse de forma que

$$\alpha = \gamma \int_0^{\tau_p} B_1(t) dt = \gamma \tau_p B_1 = \frac{\pi}{2}.$$

Ahora, el campo efectivo observado en cada punto será

$$\vec{B}_{eff} = B_1 \vec{x}' + \left(B_0 + \Delta B(\vec{r}) - \frac{\omega_{rf}}{\gamma} \right) \vec{z}'.$$

Siguiendo [7], eso trae consigo que el eje de giro no sea el eje x' sino un eje separado de x' β radianes, donde:

$$\beta = \arctan \left(\frac{\Delta B(\vec{r})}{B_1} \right)$$

y, en realidad, el pulso resulta ser de δ radianes, con δ definido de la forma

$$\delta = \gamma\tau_p \sqrt{B_1^2 + \Delta B^2(\bar{r})}$$

Siguiendo [7], el primer paso consiste por lo tanto en obtener la magnetización en cada eje:

$$\begin{pmatrix} M_{x'}(0^+) \\ M_{y'}(0^+) \\ M_{z'}(0^+) \end{pmatrix} = \mathbf{R}_{y'}(\beta)\mathbf{R}_{x'}(\delta)\mathbf{R}_{y'}(-\beta) \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ M_z^0 \end{pmatrix} \quad (1)$$

donde hemos utilizado las ecuaciones (11) y (12) del apéndice.

2.- Rotación por la inhomogeneidad del campo y los dos gradientes aplicados durante un tiempo $\tau_g = \frac{T_{acq}}{2}$. Esta rotación viene dada por el campo distinto a B_0 que se observa, a saber

$$\Delta B_{g_1}(\bar{r}) = (\Delta B(\bar{r}) + G_x x + G_y y) \bar{z}',$$

lo cual se traduce en

$$\begin{pmatrix} M_{x'}(\tau_{g_1}) \\ M_{y'}(\tau_{g_1}) \\ M_{z'}(\tau_{g_1}) \end{pmatrix} = \mathbf{R}_{z'}(\theta_{g_1}) \begin{pmatrix} M_{x'}(0^+) \\ M_{y'}(0^+) \\ M_{z'}(0^+) \end{pmatrix} \quad (2)$$

donde hemos hecho uso de la ecuación (13) y θ_{g_1} se define

$$\theta_{g_1} = \gamma\Delta B_{g_1}(\bar{r})\tau_g \quad (3)$$

3.-Efecto de relajación durante el intervalo de duración $\frac{T_E}{2}$ entre el pulso de saturación (90°) y el de inversión (180°). Denominando $E_1 = \exp(-(\frac{T_E}{2})/T1)$ y $E_2 = \exp(-(\frac{T_E}{2})/T2)$, tenemos

$$\begin{pmatrix} M_{x'}(\frac{T_E}{2}) \\ M_{y'}(\frac{T_E}{2}) \\ M_{z'}(\frac{T_E}{2}) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} E_2 & 0 & 0 \\ 0 & E_2 & 0 \\ 0 & 0 & E_1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} M_{x'}(\tau_{g_1}) \\ M_{y'}(\tau_{g_1}) \\ M_{z'}(\tau_{g_1}) \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 - E_1 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ M_z^0 \end{pmatrix} \quad (4)$$

4.- Pulso de inversión de longitud τ_p y amplitud B_2 . En este caso, el valor B_2 debe cumplir

$$\gamma \int_0^{\tau_p} B_2(t) dt = \gamma\tau_p B_2 = \pi.$$

Por otra parte, se siguen cumpliendo las condiciones de *off resonance*, donde ahora β_I y δ_I son similares a los anteriores pero sustituyendo el valor de B_2 . Así pues

$$\begin{pmatrix} M_{x'}^\pi(0^+) \\ M_{y'}^\pi(0^+) \\ M_{z'}^\pi(0^+) \end{pmatrix} = \mathbf{R}_{y'}(\beta_I)\mathbf{R}_{x'}(\delta_I)\mathbf{R}_{y'}(-\beta_I) \begin{pmatrix} M_{x'}(\frac{T_E}{2}) \\ M_{y'}(\frac{T_E}{2}) \\ M_{z'}(\frac{T_E}{2}) \end{pmatrix} \quad (5)$$

5.- En este momento, disociamos componentes longitudinal y transversal. Al respecto de la primera, la podremos llevar a término del intervalo TR, de forma que tendremos

$$\begin{aligned} M_{z'}(TR) &= E_1 \left(TR - \frac{TE}{2} \right) M_{z'}^\pi(0^+) + \\ &= \left(1 - E_1 \left(TR - \frac{TE}{2} \right) \right) M_z^0, \end{aligned}$$

con $E_1 \left(TR - \frac{TE}{2} \right) = \exp \left(- \left(TR - \frac{TE}{2} \right) / T1 \right)$, que es la componente en z' que se debe usar en la ecuación (1) para el siguiente intervalo.

Por su parte, la componente transversal durante la aplicación del gradiente en la dirección de codificación de frecuencia se puede escribir (según la ecuación (17))

$$M_{x'}^{g_2}(t) + jM_{y'}^{g_2}(t) = E_2 \left(M_{y'}^\pi(0^+) + jM_{x'}^\pi(0^+) \right) e^{-(\theta_{g_2} - \theta_{g_1})}$$

donde θ_{g_1} se define según se ha indicado en la ecuación (3) y θ_{g_2} es ahora función del tiempo y resulta ser:

$$\theta_{g_2} = \gamma\Delta B_{g_1}(\bar{r})t = \gamma(\Delta B(\bar{r}) + G_x x)t$$

y donde la variable t empieza a contar (desde cero) a partir de la aplicación del segundo gradiente en la dirección de codificación de frecuencia.

Con ello, para cada punto de la zona excitada, tenemos

$$\begin{aligned} M_{x'}^{g_2}(t) + jM_{y'}^{g_2}(t) &= \\ E_2(t)M_{x'}^\pi(0^+)e^{-j\gamma((\Delta B(\bar{r})+G_x x)t - (\Delta B(\bar{r})+G_x x+G_y y)\tau_g)} &= \\ E_2(t)M_{x'}^\pi(0^+)e^{-j\gamma\Delta B(\bar{r})(t-\tau_g)}e^{-j\gamma(G_x(t-\tau_g)x+G_y\tau_g y)} &= \\ E_2(t)M_{x'}^\pi(0^+)e^{-j\gamma\Delta B(\bar{r})(t-\tau_g)}e^{-2\pi\frac{\gamma}{2\pi}(G_x(t-\tau_g)x+G_y\tau_g y)} &= \\ E_2(t)M_{x'}^\pi(0^+)e^{-j\gamma\Delta B(\bar{r})(t-\tau_g)}e^{-j2\pi(k_x(t)x+k_y(t)y)} &= \end{aligned} \quad (6)$$

donde hemos empleado la abreviatura $M_{x'}^\pi(0^+) = M_{y'}^\pi(0^+) + jM_{x'}^\pi(0^+)$ y, además, se han definido

$$k_x(t) = \frac{\gamma}{2\pi}G_x(t - \tau_g) \quad (7)$$

$$k_y(t) = -\frac{\gamma}{2\pi}G_y\tau_g \quad (8)$$

Además, $E_2(t) = \exp(-(\frac{T_E}{2} - (T_{acq}/2 - t))/T2)$.

Si el resultado anterior se suma para todo el corte excitado, tendremos la transformada de Fourier espacial de la señal $E_2M_{x'}^\pi(0^+)e^{-j\gamma\Delta B(\bar{r})(t-\tau_g)}$ evaluada en el punto $(k_x(t), k_y(t))$ indicado. Nótese que esto da lugar a una trayectoria cartesiana de muestreo del espacio K, donde la ubicación de la componente vertical (codificación de fase) viene dada por el valor de G_y , de forma que si éste es positivo muestreamos frecuencias verticales negativas y viceversa. Por otra parte, la componente horizontal se muestrea de izquierda a derecha, según va aumentando el valor de t en el intervalo $0 \leq t \leq T_{acq}$.

6.- Finalmente, debemos introducir la relajación de la componente transversal hasta final del ciclo, de forma similar a lo hecho en el caso de la componente longitudinal. Probablemente en este caso es irrelevante, puesto que en pocos instantes esta componente se pierde, pero incluimos este efecto por si queremos estudiar la influencia de TR en la componente transversal también. Así pues, tendremos:

$$M_{x'}^{g_2}(TR) = E_2(TR - TE - T_{acq}/2) \left(M_{x'}^{g_2}(T_{acq}) + jM_{y'}^{g_2}(T_{acq}) \right)$$

con $E_2(TR - TE - T_{acq}/2) = \exp(- (TR - TE - T_{acq}/2) / T2)$.

Así pues, los siguientes ciclos de la secuencia deben simularse a partir de la ecuación (1), donde la magnetización inicial $[0, 0, M_z^{0T}]^T$ debe sustituirse por $[M_{x'}(TR), M_{y'}(TR), M_{z'}(TR)]^T$.

2.2. Secuencia EPI

La secuencia EPI es una secuencia rápida que se caracteriza por la consecución de un tren de ecos dirigidos por gradientes en vez de por pulsos de RF; por este motivo se consiguen imágenes en tiempos de captación muy breves (decenas de milisegundos) en comparación con otras secuencias como la fast spin echo (también llamada RARE) o las secuencias rápidas de eco de gradiente (por ejemplo, FLASH) [9]. Esta secuencia se puede implementar a partir de otras básicas como el spin echo descrito en este artículo, el eco de gradiente y otras basadas en el paradigma inversión recuperación.

El tren de gradientes en la dirección de codificación de frecuencia, junto con los gradientes *blip* en la dirección de codificación de fase, permite la adquisición de múltiples líneas del espacio K a partir de un único pulso de RF, como puede verse en el ejemplo de la Figura 2.

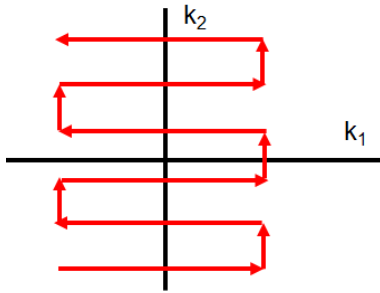


Figura 2. Recorrido en el espacio K con una secuencia EPI.

Para conseguir este efecto basta con multiplicar por unas matrices similares a las indicadas en la ecuación 2, si bien ahora el signo de G_x debe ir alternando línea a línea del espacio K para conseguir barridos en las dos direcciones indicadas por las flechas de la Figura 2.

2.3. Implementación mediante matrices sparse

Las operaciones que se han indicado en las secciones anteriores deben aplicarse a cada uno de los puntos del cuerpo excitado para dar lugar a la formación de la imagen. Ello trae consigo que las mismas operaciones deban repetirse para cada uno de los puntos de la imagen, lo supone una enorme carga computacional si no se acude a esquemas paralelos. No obstante, para el caso de una implementación en una máquina secuencial en la que se desee hacer un primer prototipado de secuencias de resonancia, se puede conseguir una mayor eficiencia mediante el empleo de rutinas que hagan uso de matrices *sparse*. En lo que sigue tendremos en mente una implementación en Matlab, si bien lo que aquí exponemos es de uso general en librerías que manejen este tipo de matrices.

El procedimiento seguido consiste en evitar bucles mediante la aplicación de las operaciones matriciales a todos los

puntos de la imagen simultáneamente. Si la imagen a construir tiene $N_x \times N_y$ puntos, creamos un vector, pongamos \mathbf{z} , de $3 \times N_x \times N_y$ componentes, procedentes de apilar vectores \mathbf{z}_i como el vector del miembro derecho de la ecuación 1. La aplicación de la matriz $\mathbf{A}(\theta)$ a cada uno de esos vectores, realizado como operación sobre \mathbf{z} , se puede llevar a cabo mediante un esquema de matrices bloque

$$\begin{bmatrix} \mathbf{A}(\theta_1) & \mathbf{0} & \cdots & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{A}(\theta_1) & \cdots & \mathbf{0} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \mathbf{0} & \mathbf{0} & \cdots & \mathbf{A}(\theta_{N_x \times N_y}) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mathbf{z}_1 \\ \mathbf{z}_2 \\ \vdots \\ \mathbf{z}_{N_x \times N_y} \end{bmatrix} \quad (9)$$

donde la matriz $\mathbf{A}(\theta_i)$ es una de las matrices indicadas en las ecuaciones (11)—(13). La matriz resultante es una matriz tridiagonal; por concreción, si escogemos la matriz (11) como referencia, los valores de las diagonales (escritos como columnas en lo que sigue) son

$$\begin{bmatrix} 0 & 1 & 0 \\ -\sin(\theta_1) & \cos(\theta_1) & \sin(\theta_1) \\ 0 & \cos(\theta_1) & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots \\ 0 & 1 & 0 \\ -\sin(\theta_{N_x \times N_y}) & \cos(\theta_{N_x \times N_y}) & \sin(\theta_{N_x \times N_y}) \\ 0 & \cos(\theta_{N_x \times N_y}) & 0 \end{bmatrix} \quad (10)$$

Estas matrices se pueden construir, almacenar y procesar de forma inmediata en Matlab mediante el empleo de la orden `spdiags`, tomando como entrada la estructura indicada en la ecuación (10). Caso contrario, el tamaño de estas matrices haría prohibitivo su uso directo.

Para las matrices de relajación y recuperación (véase ecuación 4) al ser directamente diagonales, la creación de matrices *sparse* es inmediata.

3. Resultados

Para ilustrar el método propuesto se ha realizado un experimento de reconstrucción de un corte de una resonancia cerebral sin y con la simulación de una inhomogeneidad en el campo (ver Figura 3). Las implementaciones estándar (secuencial) y acelerada (la propuesta en este artículo) se realizaron en el entorno Matlab (versión R2014a), utilizando una máquina con procesador Intel Xeon de 2.30 GHz con 27 núcleos e *hyperthreading* y con 64GB de memoria RAM. Los tiempos de ejecución (en segundos) empleados con ambas implementaciones, para diferentes tamaños de imagen, pueden verse en el Cuadro 1. Puede apreciarse que el procedimiento descrito consigue una reducción de tiempos por un factor de entre 2 y 3 a 1.

4. Conclusiones y líneas futuras

La exposición que se ha hecho de la implementación de las secuencias adolece de ciertas limitaciones: en particular, no hemos tenido en consideración los desfases que puede introducir la inhomogeneidad del campo magnético en algunos intervalos de tiempo a los que no hemos hecho mención (véase Figura 1), a saber, desde final del pulso de

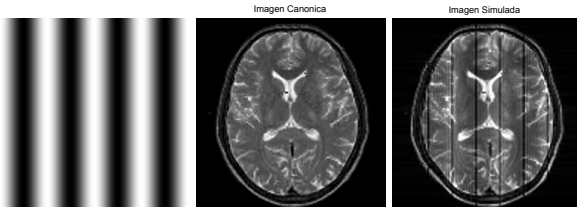


Figura 3. De izquierda a derecha, mapa de la inhomogeneidad del campo simulada, reconstrucción simulada de la imagen sin inhomogeneidad, y reconstrucción simulada de la imagen con inhomogeneidad.

Tamaño	Tiempos de ejecución			
	64 × 64	86 × 86	128 × 128	256 × 256
Secuencial	73.65	224.27	1040.30	16762.31
<i>Sparse</i>	23.80	77.13	413.76	7335.70

Cuadro 1. Tiempos de ejecución, en segundos, para las diferentes implementaciones y distintos tamaños de imagen.

saturación hasta comienzo de los gradientes de G_x y G_y , desde el final de éstos hasta el comienzo del pulso de inversión. Es necesario por lo tanto validar la hipótesis de que este hecho no es relevante. Por otra parte, no se ha tenido en cuenta que las diversas líneas de codificación de fase tienen valores de E_2 distintos, tal y como se escribe en la ecuación (6). En todo caso, hemos cuantificado unas ganancias notables con respecto a una implementación estrictamente secuencial, lo cual permite que una operativa sencilla permita abordar la simulación de secuencias con unos tiempos de ejecución asumibles.

5. Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los proyectos TEC2013-44194-P, TEC2014-57428-R (ERDF-FEDER) y VA136U13 y la empresa Giveme5D S.L.

Referencias

- [1] H. Benoit-Cattin et al., The SIMRI Project: a versatile and interactive MRI simulator. *Journal of Magnetic Resonance*, 173:97—115, 2005.
- [2] C. G. Xanthis et al., Block-Based MRI System Simulator Considering Realistic Electromagnetic Fields for Calculation of Signal, Noise and Specific Absorption Rate. *Magnetic Resonance in Medicine*, 72:237—247, 2014.
- [3] J. S. Petersson et al., MRI Simulation Using the k-Space Formalism. *Magnetic Resonance Imaging*, 11:557—568, 1993.
- [4] T. H. Jochimsen et al., Efficient simulation of magnetic resonance imaging with Bloch Torrey equations using intra-voxel magnetization gradients. *Journal of Magnetic Resonance*, 180(1):29—38, 2006.
- [5] T. Stöcker et al., High-performance computing MRI simulations. *Magnetic Resonance in Medicine*, 64(1):186—193, 2010.
- [6] C. G. Xanthis et al., MRISIMUL: A GPU-Based Parallel Approach to MRI Simulations. *IEEE Trans. on*

Medical Imaging, 33(3):607—617, 2014.

- [7] J. Bittoun J et al., A Computer Algorithm for the Simulation of Any Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Imaging Method, *Magnetic Resonance Imaging. Magnetic Resonance Imaging*, 2:113—120, 1984.
- [8] Z. P. Liang and Lauterbur P. C. *Principles of magnetic resonance imaging. A signal processing perspective*. IEEE Press Series in Biomedical Engineering, 2000.
- [9] M. A. Bernstein et al., *Handbook of Pulse Sequences*. Elsevier Academic Press, 2004.

A. Apéndice

A.1. Operaciones de rotación

Las matrices de rotación en torno a cada uno de los ejes en el sistema móvil de referencia son (véase [8], pág. 81):

$$\mathbf{R}_{x'}(\alpha) = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & \cos(\alpha) & \sin(\alpha) \\ 0 & -\sin(\alpha) & \cos(\alpha) \end{bmatrix} \quad (11)$$

$$\mathbf{R}_{y'}(\alpha) = \begin{bmatrix} \cos(\alpha) & 0 & -\sin(\alpha) \\ 0 & 1 & 0 \\ \sin(\alpha) & 0 & \cos(\alpha) \end{bmatrix} \quad (12)$$

$$\mathbf{R}_{z'}(\alpha) = \begin{bmatrix} \cos(\alpha) & \sin(\alpha) & 0 \\ -\sin(\alpha) & \cos(\alpha) & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad (13)$$

A.2. Aplicación de pulso de inversión

La aplicación de un pulso de inversión en la dirección del eje x' produce un giro de 180 grados alrededor de dicho eje. Ello se traduce en

$$\mathbf{R}_{x'}(\pi) \begin{bmatrix} M_{x'} \\ M_{y'} \\ M_{z'} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 \\ 0 & -1 & 0 \\ 0 & 0 & -1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} M_{x'} \\ M_{y'} \\ M_{z'} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} M_{x'} \\ -M_{y'} \\ -M_{z'} \end{bmatrix} \quad (14)$$

Pues bien, respecto de la componente transversal ese efecto es el de la conjugación compleja, es decir, invertir la fase del mismo. En efecto:

$$M_{x'y'} = M_{x'} + jM_{y'} \rightarrow M_{x'} - jM_{y'} = |M_{x'y'}|e^{-j\psi} = M_{x'y'}^* \quad (15)$$

A.3. Secuencia: giro-inversión-giro

Si aplicamos al vector de magnetización $|M_{x'y'}|e^{j\psi}$ sucesivamente las operaciones de giro de θ_1 radianes, inversión y giro de θ_2 , tendremos:

$$\begin{aligned} |M_{x'y'}|e^{j\psi} &\xrightarrow{\theta_1} |M_{x'y'}|e^{j(\psi-\theta_1)} \xrightarrow{inv.} \\ &|M_{x'y'}|e^{-j(\psi-\theta_1)} \xrightarrow{\theta_2} \\ |M_{x'y'}|e^{-j(\psi-\theta_1)}e^{-j\theta_2} &= |M_{x'y'}|e^{-j\psi}e^{-j(\theta_2-\theta_1)} \end{aligned} \quad (16)$$

es decir,

$$|M_{x'y'}|e^{-j\psi}e^{-j(\theta_2-\theta_1)} = M_{x'y'}^*e^{-j(\theta_2-\theta_1)} \quad (17)$$

Characterization of Tumor Heterogeneity by Texture Analysis in ^{18}F -FDG PET images: A Pilot Study

M. Manso¹, M.E. Martino^{1,2}, E. A. Rodríguez³, L. C. Landaeta³, J. L. Carreras³, F. A. Calvo^{1,4}, M. Desco^{1,2,5}, J. Pascau^{1,2,5}, A. Muñoz-Barrutia^{1,2}

¹Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón (IiSGM), Madrid, Spain,
{mmanso, emartino, jpascau, mdesco, amunoz}@hggm.es

²Departamento de Ingeniería Biomédica y Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, Leganés, Spain

³Servicio de Medicina Nuclear, Hospital Clínico San Carlos, Universidad Complutense, Madrid, Spain

⁴Departamento de Oncología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain
{ericalexander.rodriguez, laura.landaeta, joseluis.carreras, felipe.calvo}@salud.madrid.org

⁵Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Madrid, Spain

Abstract

2-Deoxy-2- ^{18}F -fluoro-D-glucose (FDG) positron emission tomography (PET) is often used in clinic for cancer diagnosis, staging, therapy planning and monitoring. Alternative features to the classical semi-quantitative variables have been recently proposed to study the heterogeneity of tumors. The method to extract such characteristics is texture analysis, which quantifies variations of uptake distribution within the lesions. **Methods:** Fifty-three head and neck and twelve rectal cancer patients were included in the analysis. A workflow in an open-source software, 3D slicer, was designed and expert clinicians were trained on its use, sixty six features were calculated including metabolic and texture parameters. Statistical analysis and dimensionality reduction techniques were performed on the data. **Results:** After observing a high correlation between variables, dimensions were reduced to five and three independent components for head and neck and rectal cancer cohort, respectively. **Conclusion:** Tumor heterogeneity parameters could be expressing important information about tumor and cancer disease, information that could be used to assess disease staging, patients' prognosis, therapy plan and survival.

1. Introduction

Texture analysis corresponds to the quantitative measurement of the spatial arrangement of intensity over an image. Textural features can be derived by the use of different methods, however the most commonly used one is the statistics-based. This technique subdivides them in first-order or global features, obtained from the histogram of the image; second-order or local parameters, calculated from the Gray-Level Co-occurrence Matrix (GLCM); and finally, third-order or regional parameters, calculated from the Gray Level Run Length Matrix (GLRLM) or the Gray Level Size Zone Matrix (GLSZM). The features of each order describe different characteristics of the image organization. While global features express gray level frequency distribution, local ones quantify the relationship between a voxel and one of its neighbors and regional features reflect variations in homogeneous areas within a certain Region of Interest (ROI) [1].

Positron Emission Technology (PET) scans have been widely used in the past years for cancer diagnosis, staging and treatment monitoring. This is achieved by visual

examination and semi-quantitative analysis of the images obtained. The most commonly used measure is the maximum Standardized Uptake Value (SUVmax); this variable measures the value of the voxel with highest uptake in the tumor but does not reflect the metabolic activity of the whole tumor. For that purpose, two additional measures are used, Metabolic Tumor Volume (MTV) and Total Lesion Glycolysis (TLG). This last variable is computed as the product of MTV and mean SUV combining both the volume and the activity over the entire lesion [2].

The interest on studying tumor heterogeneity through texture analysis of 2-Deoxy-2- ^{18}F -fluoro-D-glucose (FDG) PET images is currently increasing due to the information that some of the variables could give on the intra-tumor biological processes and also for the assessment of disease response and prognosis. The aim of the present work is to establish a complete pipeline to extract texture features from ^{18}F -FDG PET tumor images. Using the pipeline, a preliminary study was performed to establish the relationship between the classically used variables and the texture features. Dimensionality reduction techniques have been applied to define the number of required components. The analysis has been performed in two sets of images: head and neck tumors and rectal cancer.

2. Materials and methods

2.1. Patients

For the study, 53 patients suffering head and neck cancer and 12 patients with rectal cancer were included. Their characteristics are summarized in Table 1.

2.2. Acquisition of ^{18}F -FDG PET scans

For head and neck cancer patients, the images were acquired using a PET/CT Siemens Biograph True Point platform. Patients fasted at least six hours before the scan and the dose was 5 MBq/kg. The voxel size was 4x4x5 mm. In contrast, for rectal cancer patients, the images were acquired using a Philips Gemini TF model PET/CT scan with voxel size of 4x4x4 mm. The dose injected was also 5 MBq/kg.

Head and Neck Cancer		Rectal Cancer	
Sex			
Male	46	Male	11
Female	7	Female	1
Tumor Cell Type			
SCC	53	AD	12
Stage			
III-IV	53	LA	12
Disease Recurrence			
No information		Yes	4
		No	8

Table 1. Patients' general characteristics (SCC: Squamous Cell Carcinoma, AD: Adenocarcinoma, LA: Locally Advanced Carcinoma).

2.3. Image analysis

^{18}F -FDG PET images in DICOM format, all of them previously anonymized, were transferred to 3DSlicer software (version 4.0.0 Harvard University, Cambridge, MA.) [3]. In the visualization window, a nuclear medicine specialist detected the primary lesion using patient's diagnostic report. An example of how the images look in the software interface is shown in Figure 1. Secondary lesions were not considered because of partial volume effect. With the PET-IndiC module and the editor tool of 3DSlicer, a minimum threshold of 3.00 for the SUV was established. This minimum threshold was chosen since it is the standard value to differentiate between benign and malignant lesions in soft tissue and more specifically, in head and neck cancer tumors [4]. The segmentation obtained by the thresholding was then manually refined by an experienced nuclear physician to obtain the Volume of Interest (VOI). Once the VOI was defined, the module calculated the metabolic parameters. The SUV indices were calculated normalized to body weight.

A first discretization step over the voxel values of the VOI was required to build the matrices from which the local and regional textural parameters were posteriorly calculated, this was performed using the formula:

$$V(x) = \left\lceil 2^s \frac{I(x) - \min_{i \in \Omega} i}{\max_{i \in \Omega} i - \min_{i \in \Omega} i + 1} \right\rceil$$

Namely, each voxel value $I(x)$ is recalculated to $V(x)$ using this formula where 2^s ($s \in \mathbb{Z}$) is the number of discrete values and Ω the voxels belonging to the delineated lesion. This procedure was used both to reduce the noise, grouping together voxels of similar intensities, and to normalize voxel values across patients to facilitate the comparison [5]. Discrete values from 16 to 128 were considered to investigate the impact of this image-processing step in the texture variables.

Once the discretization step was performed, the texture parameters were calculated using the HeterogeneityCAD module of 3DSlicer.

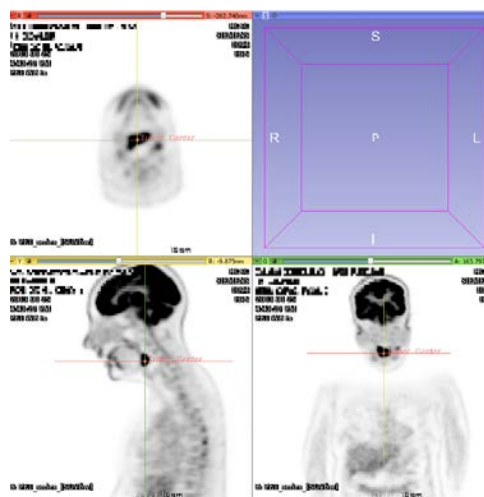


Figure 1. Head and neck cancer tumor visualized in the 3DSlicer interface. The cross lines mark the tumor position.

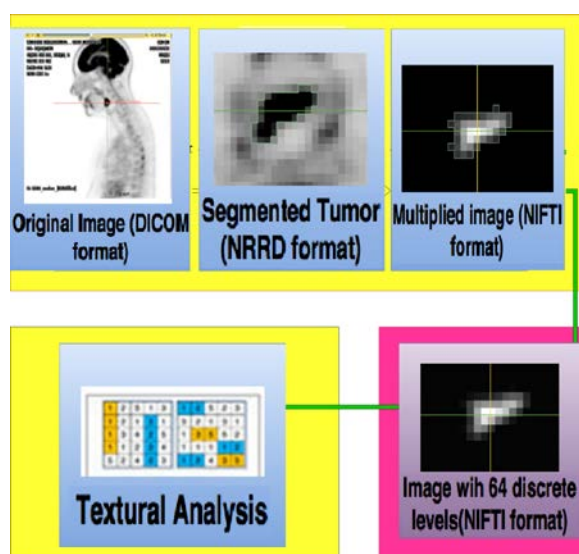


Figure 2. Workflow scheme of our tumor texture analysis on ^{18}F -FDG PET-CT images.

Finally, a total of 66 parameters were obtained; 20 metabolic parameters, 14 global parameters calculated from the histogram of the VOI, 21 local texture parameters and 11 regional texture parameters. A complete list of all the features calculated with their corresponding description can be found in [6].

2.4. Statistical analysis

Kruskal-Wallis test was used to look for statistically significant differences between the features for the different ranges (16-128) used for discretization. Correlation among the textural features and the metabolic variables under investigation was assessed for the head and neck cancer patient cohort using non-parametric Spearman's rho correlation coefficient. Linear regression was also performed using SUVmax and Total Lesion Glycolysis as independent variables. P values less than 0.05 were considered statistically significant.

After the preliminary study, the whole database with all the metabolic variables and texture features included was assessed. To reduce the dimensionality of the data, two

dimensionality reduction techniques were used: Principal Component Analysis (PCA) and Independent Component Analysis (ICA).

3. Results

In the quantization step, Kruskal Wallis test showed that some variables presented statistically significant differences among the images discretized using all the distinct ranges of gray levels. So, the test was performed again to look for differences in the variables between the images discretized to 64 and 128 gray levels. Since there were no statistically significant differences for these two gray level ranges, 64 levels were chosen as optimal. Furthermore, these results agree with the previous literature [5].

The results from the correlation analysis showed that the majority of the texture features described were highly correlated with TLG (Entropy, Run Length Non-Uniformity, Homogeneity, Dissimilarity, Gray Level Non-Uniformity). However, just moderately or weakly correlated with SUVmax. To visualize it, two linear regression plots are shown in Figure 3.

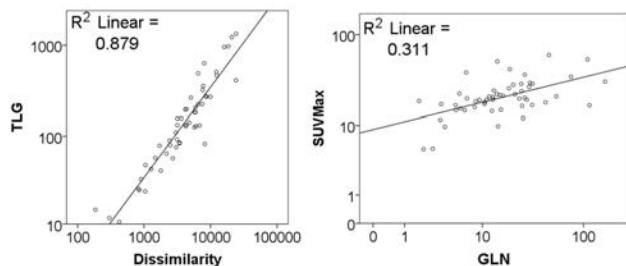


Figure 3. (Left) Illustrative example of the high correlation between Total Lesion Glycolysis (TLG) and texture parameters (dissimilarity). (Right) Moderate correlation between the maximum Standardized Uptake Value (SUVmax) and texture parameters (Grey Level Non-uniformity (GLN)).

From this fact, it can be said that both types of features can explain each other and therefore, they express similar information. It would then be desirable to reduce the dimensionality of the data.

From the Principal Component Analysis, it was obtained that only five and three factors for the head and neck and rectal cancer cohort, respectively, were needed to explain the 90% of the variance of the data. These components are uncorrelated between them and are computed as a linear combination of the original variables. The percentage of variance they explain is shown in Table 2 for both cancer types.

Since we have the information about the disease recurrence on rectal cancer patients, the data has been plotted against the principal components. In Figure 4, it can be observed that patients free of disease (after the follow-up time of five years) are completely apart from those suffering from disease recurrence.

For the Independent Component Analysis (ICA), the results from PCA were used as a pre-processing step. The same number of components was obtained (data not

shown) and we were also able to separate between the two groups of rectal cancer patients regarding disease recurrence.

Head and Neck Cancer		Rectal Cancer	
Eigenvector	Variance Proportion (%)	Eigenvector	Variance Proportion (%)
1	44,669	1	49,316
2	19,831	2	27,744
3	16,366	3	9,544
4	4,625		
5	3,318		

Table 2. Principal components explaining in total 90% of the variance of the data and the variance proportion explained by each of them.

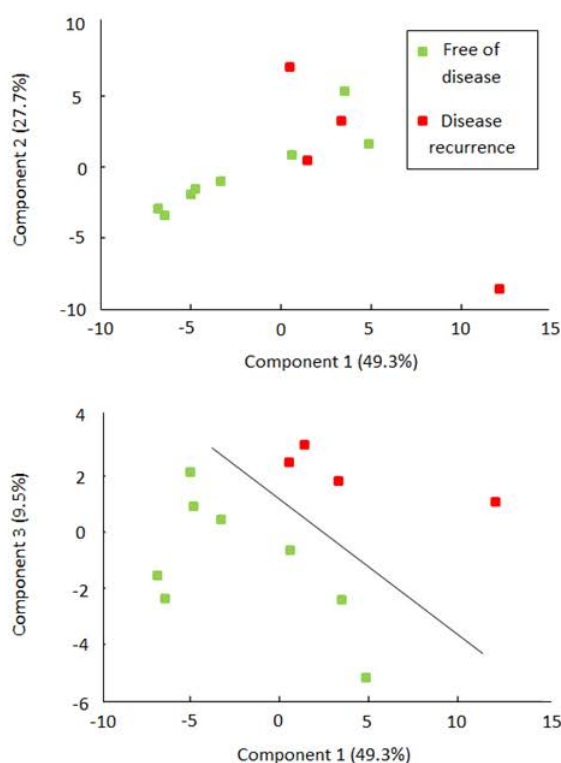


Figure 4. Representation of the data from rectal cancer cohort with respect to the principal components obtained. (Top) Component 1 vs. component 2; (Bottom) Component 1 vs. component 3.

4. Discussion

Tumor heterogeneity has been postulated to be a key point in the assessment of cancer disease because it is thought to be related to factors such as hypoxia, new vascularization, regional cellular differences, necrosis and cellular proliferation; characteristics that are strongly associated to more aggressive tumor behavior and worse patient’s prognosis [7]. Previously published results have concluded that some parameters have potential for such purpose. However, it is difficult to assess consistency of these results since textural features are highly dependent on factors such as the tumor/cancer type, the image

acquisition and reconstruction parameters and the workflow used for their computation [8].

The results of the present study shown that the standard variables currently used for staging and diagnosis from PET scans (SUVmax and TLG) present a high correlation with some textural features (e.g., they express similar information).

It is not desirable to compute a large amount of features, even more knowing that a large percentage of them are correlated with one another. However, using simple correlation coefficients is not enough to create a selection of optimal variables based on them. Therefore, a smaller set of uncorrelated components was obtained using machine-learning techniques.

Looking at the first eigenvector resulting from PCA, which is the one corresponding to the eigenvalue that has the larger variance proportion (e.g., it explains the majority of the data variance), an approximation of what features can be the ones that accounts more for the variance was performed.

To explain the 40% of the first eigenvector, only 11 features were needed for head and neck cancer and 7 for rectal cancer. An important remark of this result is that from the classical parameters, only TLG appear for head and neck cancer and none of them for rectal cancer. From this fact, we can conclude that although they are correlated to texture parameters, their weight on the variance of the data is small.

A huge number of texture parameters have been described but it is interesting to find the ones that could have predictive power for treatment response, patient survival or disease recurrence. In the current study, it has been demonstrated that we are able to separate the patients presenting cancer recurrence from those that remain disease free (five-years after diagnosis) using the principal components obtained from PCA and ICA, which is a promising result. Furthermore, we have seen that these components are mainly described by only a small set of variables in which the classical metabolic indices were not predominating, so texture could be playing an important role here. However, a much larger patient cohort is needed to establish a convincing argument.

5. Conclusions

In this work, a complete pipeline has been established to extract texture features from 18F-FDG PET/CT images of head and neck cancer and rectal cancer. The whole set of features present a high degree of correlation indicating a substantial data redundancy. However, dimensionality reduction techniques have demonstrated that only a small number of components are needed to explain the data.

The workflow designed for the texture features calculation has been validated. However, for the analysis to have a clinical end-point; the extraction of reproducible and robust features is needed. The standardization of the procedure and the availability of much larger patient databases from a wider range of cancer types and clinical

centers is also required to allow a better comparison of the results and the statement of founded conclusions.

A new and more advanced study is being developed with a larger patient cohort. Its purpose is to obtain a more accurate selection of variables and to assess the potential of texture features for patient classification and prognosis.

Acknowledgments

This work was partially funded by the Spanish Ministry of Economy and competitiveness (TEC2013-48552-C2-1-R, TEC2013-48251-C2-1-R, and TEC2015-73064-EXP), Instituto de Salud Carlos III (PI15/02121) and FEDER funds.

References

- [1] S. Chicklore, V. Goh, M. Siddique, A. Roy, P. K. Marsden, and G. J. R. Cook, "Quantifying tumour heterogeneity in F-18-FDG PET/CT imaging by texture analysis," *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, vol. 40, no. 1, pp. 133–140, 2013.
- [2] I. S. Ryu, J. S. Kim, J.-L. Roh, J. H. Lee, K.-J. Cho, S.-H. Choi, S. Y. Nam, and S. Y. Kim, "Prognostic value of preoperative metabolic tumor volume and total lesion glycolysis measured by 18F-FDG PET/CT in salivary gland carcinomas," *J. Nucl. Med.*, vol. 54, no. 7, pp. 1032–8, 2013.
- [3] A. Fedorov, R. Beichel, J. Kalpathy-Cramer, J. Finet, J.-C. Fillion-Robin, S. Pujol, C. Bauer, D. Jennings, F. Fennessy, M. Sonka, J. Buatti, S. Aylward, J. Miller, S. Pieper, and R. Kikinis, "3D Slicer as an Image Computing Platform for the Quantitative Imaging Network," *Magn. Reson. Imaging*, vol. 30, no. 9, pp. 1323–1341, 2012.
- [4] J. Soriano, A., García-Vicente, A., Bellón, A., & Carreras, "Tumores de Cabeza y Cuello," in *Utilidad de la PET-TAC en oncología. Serie de monografías Real Academia Nacional de Medicina*, 2010, pp. 109–27.
- [5] F. Tixier, M. Hatt, C. C. Le Rest, A. Le Pogam, L. Corcos, and D. Visvikis, "Reproducibility of Tumor Uptake Heterogeneity Characterization Through Textural Feature Analysis in 18F-FDG PET," *J. Nucl. Med.*, vol. 53, no. 5, pp. 693–700, 2012.
- [6] M. Manso, "Tumor Texture Analysis in 18F-FDG PET / CT," (Unpublished final degree dissertation) Universidad Carlos III de Madrid, 2016.
- [7] G. J. R. Cook, C. Yip, M. Siddique, V. Goh, S. Chicklore, A. Roy, P. Marsden, S. Ahmad, and D. Landau, "Are Pretreatment 18F-FDG PET Tumor Textural Features in Non-Small Cell Lung Cancer Associated with Response and Survival After Chemoradiotherapy?," *J. Nucl. Med.*, vol. 54, no. 1, pp. 19–26, 2013.
- [8] M. Hatt, F. Tixier, L. Pierce, P. E. Kinahan, C. C. Le Rest, and D. Visvikis, "Characterization of PET/CT images using texture analysis: the past, the present{...} any future?," *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, pp. 1–15, 2016.

Herramienta Software para la Segmentación del Árbol Dendrítico y Análisis de Sholl en Imágenes Neuronales

M. Silvestre Gómez¹, I. Fondón García¹, A. Sarmiento Vega¹, M.L. Montesinos Gutiérrez², J.J. Casañas Díaz² y B. Galán Rodríguez²

¹ Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Escuela Técnica Superior de Ingeniería, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, {marsgom3@gmail.com, irenef@us.es, sarmiento@us.es}

² Departamento de Fisiología Médica y Biofísica, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, {mlmontesinos@us.es, jjcasanas@us.es, begaro@us.es}

Resumen

El conocimiento de las características morfológicas de las células nerviosas es un aspecto de gran relevancia a la hora de tratar enfermedades del sistema nervioso. La extracción de estas características puede suponer horas, e incluso, días de trabajo manual para los expertos. La herramienta software presentada pretende reducir el tiempo de evaluación de las imágenes realizando automáticamente tanto la segmentación dendrítica, como el análisis de Sholl. La herramienta desarrollada permite procesar tanto imágenes obtenidas mediante un microscopio confocal, como imágenes de microscopía de fluorescencia, aplicando diferentes técnicas de pre-procesado de imágenes para cada tipo. Así mismo, y con el objetivo de facilitar la labor del investigador, se ha implementado una interfaz gráfica con un diseño intuitivo y guiado. Los resultados obtenidos en la detección del árbol dendrítico para imágenes confocales y de epifluorescencia han sido de un 97.18% y 96.78% de precisión, respectivamente. Respecto a los tiempos de computación en el primer caso emplea 19 segundos/imagen y en el segundo caso, 7 segundos/imagen. Para evaluar la eficiencia del algoritmo de análisis de Sholl, se han comparado los resultados con otros obtenidos manualmente por dos expertos independientes, apreciándose un gran parecido entre ambos.

1. Motivación

En este trabajo presentamos una herramienta software para la extracción automática de características morfológicas de neuronas en cultivo a partir de imágenes de microscopía de fluorescencia y microscopía confocal. En particular, la herramienta realiza una segmentación automática de la arborización dendrítica de una neurona aislada y posteriormente realiza un análisis de Sholl de la estructura segmentada. La herramienta se ha realizado en colaboración con el Laboratorio de Traducción Sináptica Local (LTSL) del Departamento de Fisiología Médica y Biofísica de la Universidad de Sevilla.

Anteriormente, el equipo científico del LTSL disponía de una herramienta de detección de la arborización dendrítica [1]. Dicho algoritmo realizaba únicamente la detección en imágenes obtenidas con microscopio confocal y poseía un tiempo de ejecución para cada una de ellas elevado. La herramienta presentada, amplía los servicios de los que ya disponían, expandiendo su uso a imágenes de epifluorescencia; optimizando la detección de la arborización dendrítica, tanto en tiempo de procesado como en mejora de la detección, y

proporcionando un análisis de Sholl automático. El análisis de Sholl se utiliza para cuantificar las ramificaciones dendríticas. Emplea circunferencias concéntricas partiendo del soma, e incrementado el radio se van contando los puntos de corte con cada circunferencia. De esta forma, se puede ver la variación espacial de la densidad dendrítica. Este proceso se suele realizar de forma manual, lo que supone un empleo de tiempo que puede ser importante y unos resultados sujetos a la subjetividad del analista de la imagen.

En la literatura existen otras herramientas relacionadas con la temática de este artículo. La herramienta Bonfire [2] realiza el análisis de Sholl en tres pasos: detección semiautomática de neuritas, digitalización del árbol neurítico, y extracción de parámetros y análisis estadístico de los resultados. Simple Neurite Tracer [3] es una aplicación cuya finalidad es reconstruir las diversas topologías neuronales y extraer determinadas características. Para construir el árbol dendrítico, el usuario debe seleccionar diversos puntos a lo largo del proceso. A diferencia de estas dos herramientas, que son semiautomáticas, SynD (Synapse Detector) [4] detecta de forma automática los somas, las dendritas y las sinapsis, y realiza también de forma automática el análisis de Sholl. Sin embargo, los resultados proporcionado por tal herramienta con la base de imágenes proporcionadas por el equipo del LTSL no han sido satisfactorios.

2. Materiales y Métodos

A continuación se detalla la base de imágenes usada para validar la herramienta, las diferentes etapas de procesado de señal implementadas: pre-procesado de las imágenes, detección del árbol dendrítico y análisis de Sholl, y la herramienta informática desarrollada.

2.1. Obtención de la base de imágenes

Las preparaciones, cultivos neuronales de baja densidad, se sometieron a marcaje utilizando anticuerpos específicos contra la proteína MAP2, proteína estructural que se encuentra en el soma, axón y dendritas. La base de imágenes está compuesta por 30 imágenes de microscopía confocal adquiridas con un microscopio confocal Olympus Fluoview FV1000 con doce planos focales por imagen, y otras 30 imágenes de epifluorescencia, obtenidas con un microscopio de epifluorescencia Nikon Eclipse y una cámara ORCAR2. La mayoría de las

imágenes contenían una única neurona, aunque en algunos casos habían dos o más neuronas.

2.2. Pre-procesado de la imagen

Debido a las diferentes características entre las imágenes de epifluorescencia y las imágenes confocal, ha sido necesario implementar diferentes técnicas de pre-procesado.

En el caso de las imágenes confocales, se ha utilizado la proyección máxima de los planos focales. A continuación, se ha realizado un realce localizado de contraste, empleando una transformación por procesamiento de punto que realza el contraste en los valores de intensidad entre el 30 y 60% de la máxima, proporcionándoles el valor máximo, y dejando inalterados el resto de intensidades.

Las imágenes de epifluorescencia no poseen una iluminación uniforme, lo que se traduce en la aparición de brillos y reflejos que rodean las zonas de alta intensidad, fundamentalmente los somas de las neuronas. En estas imágenes, las técnicas habituales para la homogeneización de la iluminación no han resultado eficientes. La solución adoptada emplea la Transformada Wavelet (TW) y un posterior filtrado homomórfico.

La descomposición Wavelet [5] presenta una representación multi-resolución de la imagen (frecuencia y tiempo) y es el resultado de la aplicación de un banco de filtros, el cual tendrá tantos niveles como coeficientes, que pueden ser de aproximación (fondo) o de detalles de la imagen. En el algoritmo propuesto, se descompone la imagen original en las series de Wavelet de Haar con 5 y 6 niveles [6]. A continuación, se eliminan los coeficientes de aproximación y se reconstruyen ambas imágenes. Posteriormente, se aplica un filtrado homomórfico a cada una de ellas que eliminará los píxeles del fondo que poseen mayor intensidad que no han podido suprimir las descomposiciones. Por último, se obtiene la imagen resultante como combinación de las dos imágenes filtradas mediante el operador lógico OR.

El filtrado homomórfico [7] se basa en el hecho de que cada imagen se puede separar en dos componentes: reflectancia e iluminación. La primera de ellas depende de la naturaleza de los objetos de la imagen y de cómo reflejan la luz, algo intrínseco de cada material. La segunda es el resultado de la iluminación de la escena. La idea consiste en eliminar la segunda componente en las imágenes manteniendo la reflectancia.

Los pasos seguidos en el filtrado homomórfico aplicado en este algoritmo son:

- Calcular del logaritmo de la imagen.
- Aplicar la transformada de Fourier del logaritmo.
- Aplicar un filtro paso de alta con el fin de eliminar la componente de iluminación.
- Calcular de la transformada de Fourier inversa de la imagen filtrada.
- Aplicar la función exponencial que elimina el

logaritmo.

En la *Figura 1* se muestra la imagen de epifluorescencia original, donde se aprecian los brillos alrededor de las zonas de alta intensidad, junto con la imagen tras el pre-procesado aplicado.

2.3. Detección del árbol dendrítico

El algoritmo implementado para la detección de las dendritas se basa en la técnica propuesta en [8], donde se aplica a la detección de vasos sanguíneos en la retina. En [1], ese algoritmo se adaptó para la detección del árbol dendrítico en imágenes confocales.

En este trabajo, hemos mejorado el algoritmo de detección, obteniendo los parámetros adecuados para incrementar su eficiencia en un mayor número de imágenes confocales y en las de epifluorescencia reduciendo, a su vez, el tiempo de procesado.

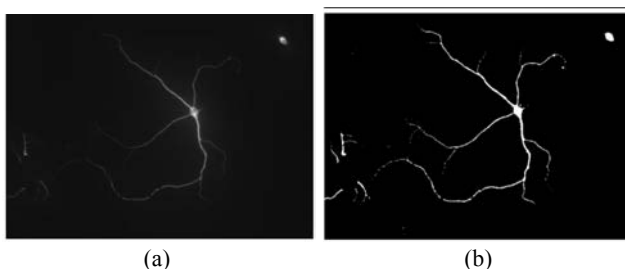


Figura 1. (a), imagen original de epifluorescencia en la que se aprecian los brillos halos de luz. (b), el resultado del pre-procesado de la misma.

El método se basa en el hecho de que la sección transversal de la dendrita se puede modelar como una función gaussiana. Se emplean de esta forma una serie de filtros que se adaptan al perfil de intensidad dendrítico con el objetivo de detectarlas. Estos filtros adaptados o Matched Filters (MF) son rotados para detectar dendritas en diferentes orientaciones: 10 para las imágenes de confocal y 30 para las de epifluorescencia. Para eliminar errores debidos a la detección incorrecta de bordes del soma como dendritas se aplica el filtro de derivada de primer orden de la función gaussiana o First Order Derivative of a Gaussian (FDOG) que presenta una respuesta simétrica en las dendritas y antisimétrica en otras regiones erróneas. De esta forma, se considera que hay una dendrita cuando se obtiene un valor alto al aplicar el filtro MF y un valor cero al aplicar FDOG. El resultado de este paso es una imagen que contiene una máscara de árbol dendrítico. En la *Figura 2* se muestra un ejemplo de detección.

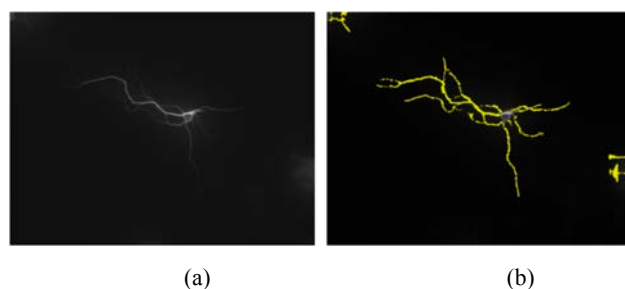


Figura 2. (a), imagen original de epifluorescencia y (b) resultado de la detección dendrítica.

2.4. Análisis de Sholl

El algoritmo implementado puede hacer el análisis de Sholl en imágenes donde hay más de una neurona. Para ello, en un primer paso, se elimina de la imagen otras neuronas distintas a la interés en caso de que las hubiera. Se obtiene los somas usando la descomposición Wavelet. Se usa las funciones kernel de Meyer de 5 componentes y se suprimen todos los coeficientes de detalle, preservando únicamente los de aproximación. Mediante la binarización de la imagen de aproximación se obtiene una máscara de los somas. Se combina la máscara de los somas con la máscara de árbol dendrítico. A continuación se realiza un análisis de componentes conexas, donde cada componente conexa se corresponde con una neurona completa. Identificadas las neuronas presentes en las imágenes, se elimina la neurona que no es de interés.

A continuación se crean las circunferencias concéntricas desde el radio máximo del soma hasta que no haya más puntos de corte; y se obtienen los cortes de las dendritas con éstas empleando una esqueletonización de la imagen. Las circunferencias poseen un grosor de 3 píxeles para evitar fallos en la obtención de los puntos de corte, si bien más adelante se eliminan los múltiples puntos de corte obtenidos por el grosor empleado. En la Figura 3, se ilustra un ejemplo de la detección de los puntos de corte.

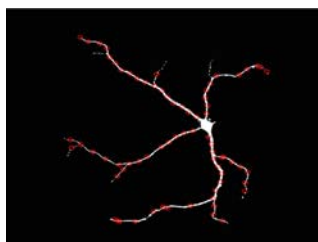


Figura 3. Puntos de corte detectados con las circunferencias

Finalmente, a partir de los puntos de corte se obtiene la distribución del número de dendritas a medida que se alejan del soma.

La herramienta permite procesar un conjunto de imágenes y evaluar los resultados de forma conjunta, mediante el denominado análisis de Sholl aumentado, donde se representa una función de distribución promedio de todas las imágenes.

2.5. Herramienta Software

La herramienta software se ha implementado mediante Guided User Interface (GUI) incluido en el software MATLAB® R2014a. Estructurada en diversas pestañas, su diseño tiene como objetivo el manejo simple por parte de los usuarios a los que está destinado e incluye información para guiar durante todo el proceso. Las imágenes que procesa esta herramienta deben estar en formato .oib para imágenes confocales o en formato .tiff para imágenes de epifluorescencia. En la Figura 4 se observa la detección del árbol dendrítico en la herramienta.

La herramienta permite crear un nuevo proyecto o abrir un proyecto existente para añadir nuevas imágenes al

proyecto. Una vez abierto el proyecto, se puede *Iniciar Procesado* o *Mostrar Resultados*.

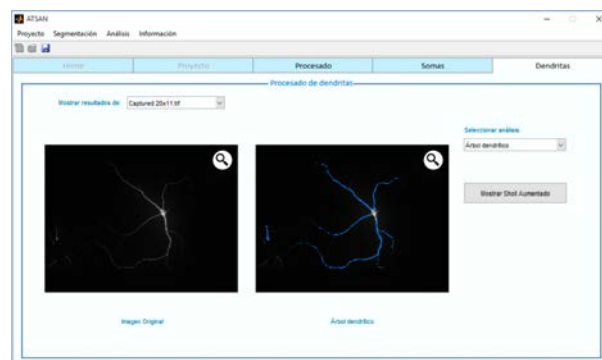


Figura 4. Detección del árbol dendrítico en la herramienta

La herramienta permite seleccionar las imágenes que se desea procesar dentro de la carpeta del proyecto. Con la pestaña de *Mostrar Resultados* se activa la visualización de la detección del árbol dendrítico y el análisis de Sholl. En imágenes donde hay más de una neurona se solicita al usuario que seleccione (pinchando con el ratón sobre la imagen) la neurona a la cuál se le desea hacer el análisis de Sholl. El usuario también puede cambiar la distancia entre los círculos concéntricos del análisis de Sholl. Todas las imágenes mostradas disponen de la opción de ampliarse en una nueva ventana para una mejor visualización de los resultados.

Una vez finalizado el procesado y análisis de las imágenes, se permite guardar los resultados en un fichero .mat. En este fichero están todas las imágenes intermedias generadas durante el procesamiento, los resultados y gráficas obtenidos en el análisis de Sholl y el análisis de Sholl aumentado.

3. Resultados

Los parámetros estadísticos extraídos para la validación de la herramienta han sido: sensibilidad, especificidad y precisión. Además, se ha evaluado el tiempo de ejecución del algoritmo de segmentación dendrítica con el fin de compararlo con la herramienta actualmente empleada. Dichos parámetros se presentan en la Tabla 1 para imágenes confocales y en la Tabla 2 para imágenes de epifluorescencia.

Medidas Estadísticas	Herramienta anterior	Herramienta propuesta
Sensibilidad (%)	80.83	80.90
Especificidad (%)	98.67	98.97
Precisión (%)	98.12	97.18
Tiempo ejecución (min/imagen)	3.86	0.3167 (19 s/imagen)

Tabla 1. Medidas estadísticas de la detección dendríticas de imágenes confocales

Medidas Estadísticas	Herramienta anterior	Herramienta propuesta
Sensibilidad (%)	21.407	85.198
Especificidad (%)	95.622	96.945
Precisión (%)	95.37	96.782
Tiempo de ejecución (min/imagen)	14	0.1167 (7 s/imagen)

Tabla 2. Medidas estadísticas de la detección dendríticas de imágenes de epifluorescencia

Por otro lado, para evaluar la eficacia del algoritmo de análisis de Sholl, se ha realizado una comparación de los resultados del análisis de Sholl aumentado con los proporcionados por dos expertos diferentes. En la Figura 5 se presentan los resultados obtenidos con el conjunto de imágenes de epifluorescencia.

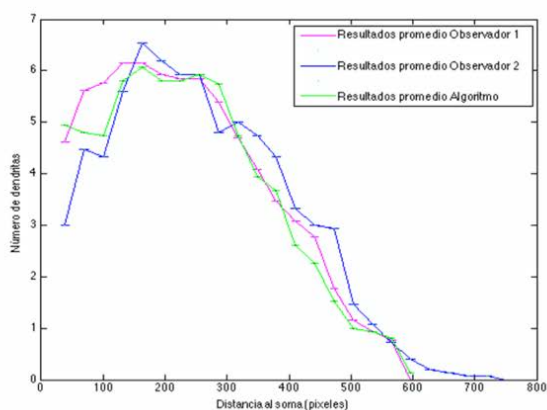


Figura 5. Representación de Análisis de Sholl Aumentado. Resultados usando la base de imágenes de epifluorescencia

4. Discusión

Con la nueva herramienta hemos conseguido mejorar sustancialmente los tiempos de ejecución de los algoritmos y mejorar las prestaciones de los mismos, especialmente en las imágenes de epifluorescencia. Para conseguir estos resultados ha sido esencial la inclusión de una etapa de pre-procesado específica para las imágenes de epifluorescencia, con técnicas diferentes a las usadas en imágenes de microscopía confocal. Además, hemos realizado un mejor ajuste de los parámetros del algoritmo de detección del árbol dendrítico.

Los resultados obtenidos en imágenes confocales son ligeramente superiores a los obtenidos en imágenes de epifluorescencia, debido fundamentalmente a su mayor nitidez. La dificultad de la detección automática en imágenes de epifluorescencia radica en la presencia de brillos en el fondo de la imagen que no ha sido posible eliminar completamente en la etapa de pre-procesado sin suprimir parte del árbol dendrítico. No obstante, es importante mencionar que los programas automáticos dedicados al mismo objeto de estudio de este proyecto no son capaces de detectar correctamente el árbol dendrítico en este tipo de imágenes.

Respecto a los resultados del algoritmo de análisis de Sholl han sido muy similares a los obtenidos por los dos expertos independientes.

5. Conclusiones

En este trabajo se ha presentado una herramienta software que realiza la segmentación del árbol dendrítico y el análisis de Sholl de imágenes de cultivos de neuronas de baja densidad, donde puede haber más de una neurona. Esta herramienta puede aplicarse a imágenes obtenidas mediante dos técnicas de microscopía: confocal y de epifluorescencia. La herramienta realiza un pre-procesado de las imágenes usando técnicas diferentes para cada tipo de imagen, debido a las diferentes características del fondo de la imagen. A continuación realiza una detección automática del árbol dendrítico y con esa información calcula automáticamente la distribución espacial de las dendritas mediante el denominado análisis de Sholl. La herramienta también es capaz de procesar conjuntos de imágenes y realizar el denominado análisis de Sholl aumentado para calcular el promedio de la distribución espacial de las dendritas, con un tiempo de ejecución muy reducido.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado gracias al proyecto de la Junta de Andalucía P11-TIC-7727 y a la Escuela Técnica Superior de Ingeniería de la Universidad de Sevilla.

Referencias

- [1] S. García Gutiérrez, I. Fondón García, A. Sarmiento Vega, M. L. Montesinos Gutiérrez, Segmentación automática del árbol dendrítico en imágenes neuronales de microscopía confocal, *Actas del XXXII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2014)*, Barcelona, ID-750.
- [2] C. G. Langhammer, M. L. Previtiera, E.S. Sweet; et al., Automated Sholl Analysis of Digitized Neuronal Morphology at Multiple Scales Whole Cell Sholl Analysis Versus Sholl Analysis of Arbor Subregion, *Cytometry A* vol 77, sup 12, 2010, pp 1160-8.
- [3] M. Longair, D. Baker, J. Armstrong, Simple neurite tracer: Open source software for reconstruction, visualization and analysis of neuronal processes, *Bioinformatics*, vol 27, sup 17, 2011, pp. 2453-2454.
- [4] S. K. Schmitz, J. J. Hjorth, R. M. Joemai et al., Automated analysis of neuronal morphology, synapse number and synaptic recruitment, *Journal of Neuroscience Methods*, vol 195, 2011, pp. 185-193.
- [5] L. Chun-Lin, A tutorial of the Wavelet Transform, 2010.
- [6] P. Śliwiński, Nonlinear System Identification by Haar Wavelets, Springer, 2013 (ISBN 978-3-642-29396-2)
- [7] Q. Abbas, I. Fondón, E. Celebi, W. Ahmad, A Feature Preserving Hair Removal Algorithm for Dermoscopy Images, *Skin Research and Technology*, vol 19, 2013, pp e27-e36.
- [8] B. Zhang, L. Zang, L. Zang, F. Karray, Retinal vessel extraction by matched filter with first-order derivative of Gaussian, *Computers in Biology and Medicine*, vol 40, 2010, pp 438-445.

Señales Biomédicas 2

Jueves 24 de Noviembre

Detección Automática de Fibrilación Auricular Mediante Medidas de Energía Espectral Relativa

M. García Teruel¹, J. Ródenas García¹, R. Alcaraz Martínez¹, J.J. Rieta Ibáñez²

¹ Departamento de Ingeniería Eléctrica, Electrónica, Automática y Comunicaciones, Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete, España, {Manuel.Garcia, Juan.Rodenas, Raul.Alcaraz}@uclm.es

² Biomedical Synergy, Dep. Ingeniería Electrónica, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, jjrieta@upv.es

Resumen

El presente trabajo desarrolla una metodología para la detección automática de Fibrilación Auricular (FA), que es la arritmia más prevalente y que suele estar infradiagnosticada debido a que muchos pacientes pueden padecerla de forma asintomática o con episodios muy breves. Este trabajo aplica una métrica, basada en el cómputo de la Energía Wavelet Relativa (RWE), a la actividad auricular contenida en el intervalo TQ de cada latido de un electrocardiograma. El algoritmo desarrollado se ha testado mediante señales sintéticas bajo condiciones variables, tales como ritmo cardíaco y su variabilidad, amplitud de la actividad auricular o presencia de ruido y, a continuación, se ha validado también mediante señales reales procedentes de la base de datos MIT-BIH AF. Los resultados obtenidos con señales sintéticas demostraron un comportamiento robusto de RWE (exactitud mayor del 95%) bajo un amplio rango de ritmos cardíacos, amplitud de ondas P y f, así como niveles de ruido. Además, el promediado de 15 intervalos TQ, que introduce un retardo tolerable de 7 latidos en la detección, demostró ser una estrategia muy eficaz para aumentar la robustez frente al ruido. Los resultados con la base de datos MIT-BIH AF reportaron una exactitud de detección superior al 93%, corroborando los obtenidos con señales sintéticas y confirmando la robustez del método para detectar automáticamente episodios de FA incluso de muy corta duración o sin variabilidad del ritmo cardíaco.

1. Introducción

La Fibrilación Auricular (FA) es la arritmia supraventricular más común y supone en la actualidad uno de los mayores retos cardiovasculares en el mundo desarrollado [1]. Se considera que alrededor del 1.5-2% de la población general sufre FA [2]. Aunque no supone una causa de muerte por sí misma, además de reducir la calidad de vida del paciente, la FA ha sido asociada con un importante incremento en el riesgo de mortalidad principalmente debida a causas cardiovasculares [3]. En consecuencia, la FA se ha convertido en las últimas décadas en un importante problema de salud pública, suponiendo además un significativo gasto para cualquier servicio de salud en los países desarrollados [4].

Las típicas ondas P observadas en un electrocardiograma (ECG) normal son reemplazadas en FA por una serie de ondas fibrilatorias (ondas *f*) de amplitud, duración y morfología variables. La FA suele venir también caracterizada por un rápido e irregular ritmo ventricular [5]. Aunque estas alteraciones electrofisiológicas suelen causar distintos síntomas (fatiga, mareos, palpitaciones...), hasta un 90% de los episodios paroxísticos (FAP) pueden ser asintomáticos [6], lo que retrasa notablemente la diagnosis

y tratamiento tempranos de la FA. Aunque usualmente la FA comienza en forma paroxística, es decir, con episodios que revierten espontáneamente dentro de los siete primeros días desde su inicio [7], un importante número de pacientes progresan desde ella hacia las formas persistente y permanente [8], en las que los episodios se prolongan durante mayor tiempo. Por ello, una detección temprana de la FAP es esencial en la prevención de posteriores complicaciones, lo que no siempre supone una tarea fácil, pues a menudo estos episodios presentan una duración de tan solo unos pocos latidos, lo que dificulta su detección automática a partir del ECG [9].

Durante los últimos años se ha propuesto una amplia variedad de detectores automáticos de FA [9]. La mayoría de ellos, centrados en la detección de un ritmo ventricular irregular. Sin embargo, para conseguir buenos resultados suelen requerir extensas ventanas de datos, lo que involucra importantes retardos y, en consecuencia, errores en la detección de episodios breves de FAP. Además, la presencia de latidos ectópicos puede provocar falsas detecciones. Para atenuar estos problemas, otros trabajos han preferido centrarse en el análisis de la actividad auricular contenida en el intervalo TQ. Este trabajo adopta esta filosofía y presenta un algoritmo para la detección automática de episodios de FAP basado en la descomposición wavelet estacionaria del intervalo TQ de cada latido y el posterior análisis de la energía relativa wavelet (Relative Wavelet Energy, RWE) contenida en cada escala. En primer lugar, se analiza mediante señales sintéticas su robustez ante diferentes condiciones (ritmo cardíaco y su variabilidad, amplitud de las ondas P y *f* y distintos niveles de ruido) y, a continuación, se valida su actuación mediante una base de datos de ECGs reales con FAP.

2. Metodología

2.1. Materiales

Con el objetivo de estudiar la habilidad en la detección de FA y ritmo sinusal (RS) en un amplio conjunto de situaciones, primeramente se han definido diferentes conjuntos de registros sintéticos, obtenidos a partir del modelo de McSharry et al. [10] con una frecuencia de muestreo de 250 Hz. Estos registros han permitido considerar diferentes aspectos que podrían influir en la detección de FA y RS, tales como el ciclo cardíaco y su variabilidad, la amplitud de las ondas P y *f*, y la presencia de ruido. El mismo modelo ha sido utilizado para generar, anulando previamente las ondas P, la actividad ventricular

en los episodios de FA. Respecto a la actividad auricular, añadida a la ventricular en las señales de FA, ésta fue sintetizada a partir del modelo propuesto por Stridh y Sörnmo [11], obteniendo las ondas *f* como la suma de *M* armónicos con un fundamental cuya frecuencia se modificó aleatoriamente con una distribución normal de 6 Hz de valor medio y 1.5 Hz de desviación estándar. Los episodios sintetizados de FA y RS fueron finalmente combinados para generar las señales sintéticas de trabajo, en las que la duración de cada episodio FA y RS se varió aleatoriamente entre 2 y 2000 latidos, y el número de episodios de FA en cada señal se seleccionó de manera aleatoria entre 4 y 50.

Para evaluar el algoritmo desarrollado sobre un contexto real, se utilizó la base de datos MIT-BIH AF, disponible en PhysioNet y ampliamente usada en trabajos previos en la validación de detectores automáticos de FA. Esta contiene 23 registros completamente anotados de 10 horas de duración, muestreados a 250 Hz y con 12 bits de resolución, procedentes principalmente de pacientes con FAP.

2.2. Procedimiento

En primer lugar, ambos tipos de señales, sintéticas y reales, fueron preprocesadas: la línea basal fue eliminada mediante un filtro IIR paso alto con frecuencia de corte de 0.5 Hz y el ruido de alta frecuencia se redujo con un filtro paso bajo IIR con 50 Hz de frecuencia de corte. A continuación, cada pico R fue detectado mediante un algoritmo basado en transformada fasorial [12], lo que permitió identificar cada intervalo TQ como el segmento localizado 50 ms antes de cada pico R. Para conseguir insensibilidad a ectópicos y a errores en la detección de picos R, la duración de este intervalo fue computada como un cuarto de la mediana del intervalo RR para los últimos 10 latidos. La Figura 1 muestra las diferencias observadas en el intervalo TQ promedio en un episodio real de RS y en otro de FA.

Posteriormente, cada intervalo TQ fue analizado usando transformada wavelet estacionaria (Stationary Wavelet Transform, SWT) [13]. Teniendo en cuenta que las señales fueron muestreadas a 250 Hz y que la onda P está caracterizada por bajas frecuencias (inferior a 10-15 Hz) [14], se eligió una descomposición wavelet de cuatro niveles. Para discernir entre episodios FA y RS, se analizó la RWE aportada por cada escala wavelet. Tanto para las señales sintéticas como para las reales, se eligió la función Daubechies de sexto orden, con la que se obtuvieron los mejores resultados. La Figura 2 recoge los valores obtenidos de RWE₁, RWE₂, RWE₃ y RWE₄ para actividades típicas en intervalos TQ reales tanto de RS como de FA.

A continuación se comprobó el comportamiento del algoritmo bajo diferentes condiciones. Para valorar la implicación del ritmo cardíaco sobre la RWE computada, se sintetizaron 20 señales ECG, con un ritmo regular, para cada uno de los siguientes valores: 60, 80, 120, 140, 160 y 180 latidos por minuto (lpm), manteniendo las amplitudes de las ondas P y *f* en valores típicos de 200 y 150 μ V, respectivamente. Para analizar si la amplitud de la onda P podría tener efectos significativos sobre la habilidad predictiva de RWE, se generaron nuevamente 20 señales sintéticas para cada valor de amplitud de 200, 160, 120, 80, 40 y 20 μ V, todos ellos con un ritmo regular de 80 lpm,

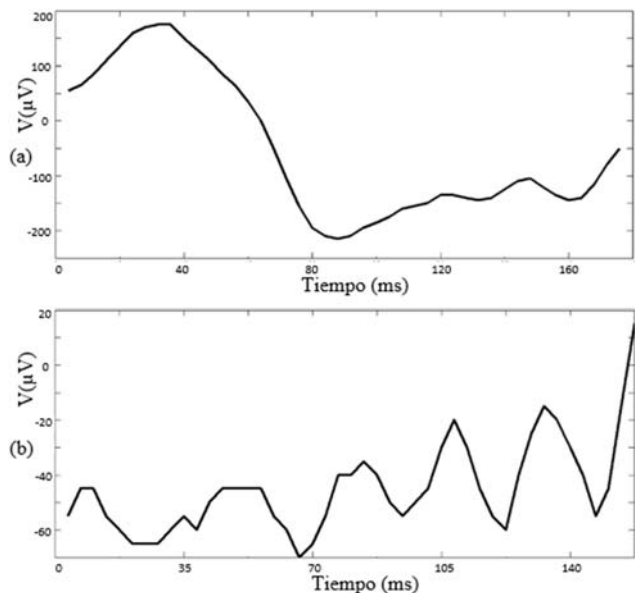


Figura 1. Ejemplo de intervalo TQ (a) para RS, (b) para FA.

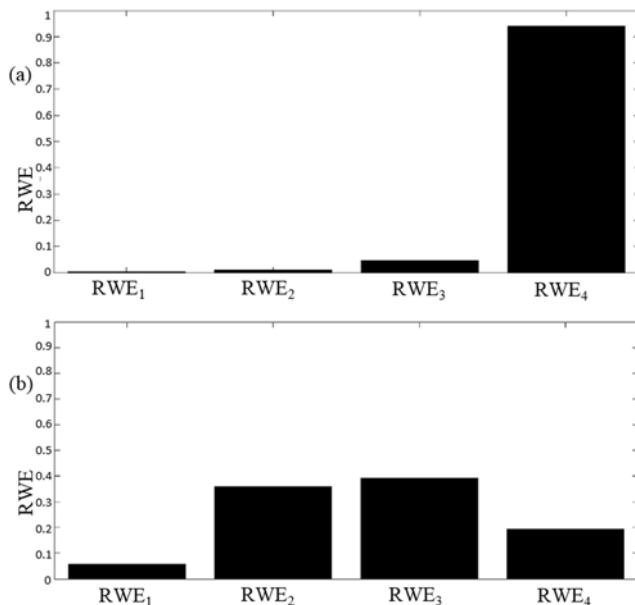


Figura 2. RWE obtenido de TQ para actividades (a) RS y (b) FA.

tanto para RS como para FA. El mismo test se repitió manteniendo la amplitud de la onda P a 200 μ V y variando la amplitud de las ondas *f*. Se analizó también la habilidad de RWE para trabajar con ritmos cardíacos irregulares, para lo cual la variabilidad de dicho ritmo en los segmentos FA fue generada mediante variación aleatoria de series RR consecutivas, acorde a una desviación estándar específica de su valor medio. Nuevamente, se generaron 20 señales para cada valor específico de 0, 5, 10, 15, 20 y 25%. El valor medio del ritmo para los segmentos RS y FA se seleccionó según una distribución normal con media de 80 y 100 lpm y desviación estándar de 7 y 10 lpm, respectivamente. Similarmente, la amplitud de las ondas P y *f* se obtuvo a partir de una distribución normal con media 100 y 75 μ V y desviación estándar de 35 y 20 μ V, respectivamente. Para analizar el comportamiento de RWE en un entorno ruidoso se generaron señales con diferente relación señal-ruido (SNR). En este sentido, diferentes niveles de ruido

electromiográfico, extraído de la base de datos MIT-BIH Noise Stress, se añadieron latido a latido a cada señal generada. De nuevo se obtuvieron 20 señales para cada uno de los valores de SNR: 40, 30, 20, 10, 5, 0 y -5 dB.

En cada una de las pruebas, y para cada valor, se usó una validación cruzada de 10 iteraciones para entrenar y testear las métricas RWE_1 , RWE_2 , RWE_3 y RWE_4 , lo que permitió obtener una generalización del comportamiento del algoritmo. Para cada conjunto de aprendizaje se utilizó una curva ROC (Receiver Operating Characteristic) para obtener el umbral discriminante óptimo entre RS y FA. Se eligió aquel que proporcionó mayor exactitud, es decir, el mayor número de latidos totalmente correctamente clasificados.

Con el objetivo de incrementar la inmunidad al ruido de la métrica basada en RWE se estudió también cómo intervenía el promediado de diferentes intervalos TQ. Así, para cada latido, fue considerada la mediana del intervalo TQ de sus L latidos precedentes. Se manejaron valores de L de 1, 2, 5, 10, 15 y 20 latidos. Indicar que este promediado provoca un cierto retardo en la detección de FA, de forma que cuanto mayor sea el valor de L mayor será el retardo introducido. Dicho retardo en la transición fue también estudiado para diferentes valores de L .

En relación a las señales reales, y dado que en ellas no es posible controlar el resto de parámetros, únicamente fue estudiado el efecto de identificar episodios FA y RS a partir del intervalo TQ mediano y el retardo en la detección. Al igual que con las señales sintéticas, se analizaron valores de L de 1, 2, 5, 10, 15 y 20 latidos en señales del conjunto MIT-BIH AF. La validación cruzada de 10 iteraciones se usó también aquí para validar la métrica propuesta.

3. Resultados

En relación a los resultados obtenidos sobre señales sintéticas, para todos los experimentos el valor predictivo de RWE_1 fue inferior al resto de escalas, que presentaron un comportamiento muy similar, aunque con ligeras diferencias. RWE_4 proporcionó una exactitud cercana al 100% para ritmos entre 40 y 140 lpm, RWE_2 y RWE_3 , aunque con valores de exactitud superiores al 90%, mostraron un significativo descenso para ritmos iguales o superiores a 140 lpm. RWE_2 y RWE_3 mostraron una menor habilidad que RWE_4 en la discriminación para amplitudes de las ondas P y f inferiores a 80 y 60 μ V, respectivamente. No se observaron diferencias relevantes entre estas tres escalas para los valores analizados de variabilidad del ritmo cardíaco; de hecho, las tres métricas presentaron una exactitud próxima al 100%, con independencia de la ausencia o presencia de variabilidad en el ritmo ventricular.

En relación al comportamiento frente al ruido, la exactitud de RWE_2 , RWE_3 y RWE_4 se incrementó para valores desde -5 a 20 dB, permaneciendo en un valor estable a partir de este último valor. Así, aunque RWE_4 proporcionó una exactitud cercana al 95% para valores de SNR superiores a 20 dB, su comportamiento fue notablemente inferior bajo presencia de ruido de mayor nivel. Sin embargo, este comportamiento mejoró sustancialmente cuando se computó RWE_4 a partir del intervalo TQ mediano, tal y como se muestra en la Figura 3. Concretamente, para un

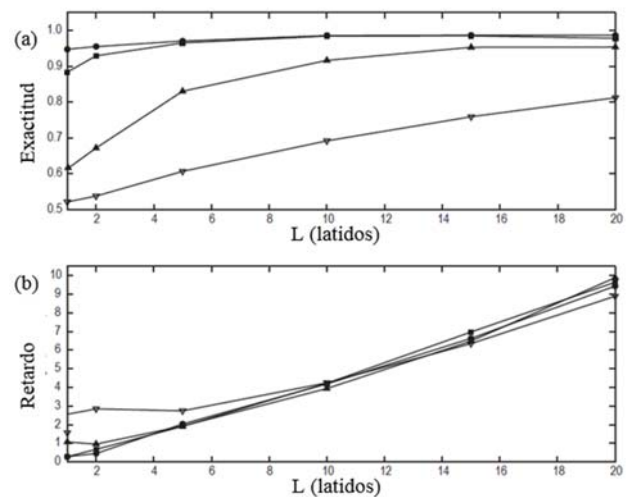


Figura 3. Resultados obtenidos, en función de L , de (a) exactitud y (b) retardo en latidos en la detección de RS y FA proporcionados por RWE_4 a partir de señales sintéticas con valores de SNR de -5 (∇), 0 (\blacktriangle), 10 (\blacksquare) y 20 (\bullet) dB.

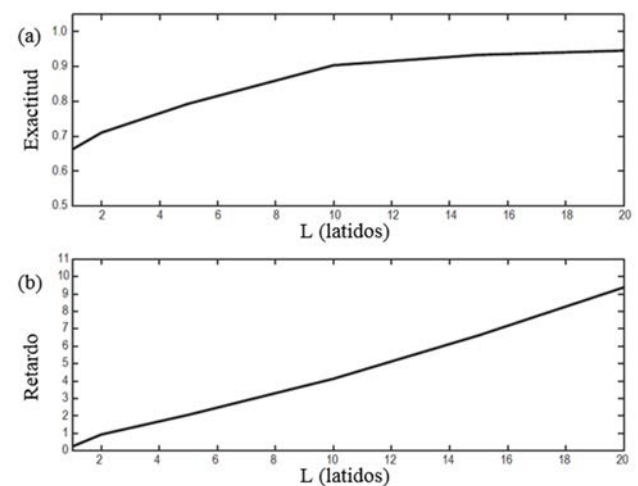


Figura 4. Resultados obtenidos de (a) exactitud y (b) retardo en latidos en la detección de RS y FA proporcionados por RWE_4 a partir de señales reales, como función de L .

SNR a de 0 dB, RWE_4 proporcionó precisiones superiores al 90% y 95% para $L=10$ y 15 latidos, respectivamente, pero la mejora fue limitada para valores mayores de SNR. En cualquier caso, el uso de $L=5$ latidos incrementó la exactitud alrededor de un 6% y 3% comparado con $L=1$ latido para valores de SNR de 10 y 20 dB, respectivamente.

Esta mejora en la exactitud fue asociada con un retardo en la transición. De esta manera, mientras se alcanzó una identificación instantánea de FA o RS para $L=1$ latido, se obtuvo un retardo cercano a la mitad de L cuando se utilizó el intervalo mediano de TQ.

En relación a las señales reales, RWE_4 proporcionó también la mayor habilidad para diferenciar entre FA y RS para registros de la base de datos MIT-BIH AF. Al igual que para las señales sintéticas, cuanto mayor fue el valor de L mayor fue la exactitud obtenida, tal y como se muestra en la Figura 4. Así, el comportamiento de RWE_4 resultó muy similar, aunque con ligeramente menores valores de exactitud, a los obtenidos para las señales sintéticas para SNR de 0 dB. Así,

mientras la exactitud obtenida con señales sintéticas fue del 95.62% (sensibilidad del 94.53% y especificidad del 96.89%) para $L=15$ latidos, la correspondiente en señales reales fue del 93.32% (sensibilidad del 91.21% y especificidad del 94.53%). Por otra parte, RWE_4 también mostró un retardo en la transición muy similar al obtenido con las señales sintéticas, resultando, por ejemplo, un retardo medio de 7 latidos para un valor de $L=15$ latidos.

4. Discusión

En todas las pruebas realizadas, RWE_1 proporcionó un comportamiento notablemente inferior al resto de métricas, aportando el menor valor de exactitud. Por el contrario, RWE_4 demostró ser un magnífico detector de FA para valores normales del ritmo cardíaco, entre 40 y 140 lpm, perdiendo habilidad en la detección para valores superiores. No obstante, destacar que ritmos cardíacos tan elevados son pocos usuales durante FA, de hecho solo 8 de los 291 episodios de FA en la base de datos MIT-BIH AF presentan un ritmo cardíaco superior a 140 lpm. Es interesante destacar que esta metodología basada en RWE proporcionó un comportamiento similar en presencia o no de un ritmo ventricular irregular. Por otra parte, los resultados obtenidos a partir de señales sintéticas, demostraron un buen comportamiento de RWE_4 para muy bajos valores de amplitud tanto de la onda P como de la onda f. Sin embargo, como era de esperar, todas las métricas resultaron muy sensibles a la presencia de ruido, por otra parte, muy común en ECG ambulatorio. Por este motivo, la estrategia de utilizar un TQ mediano resultó esencial para diferenciar entre RS y FA de una manera robusta. Así, en presencia de una SNR de 0 dB, RWE_4 fue capaz de proporcionar una exactitud superior al 95% para un intervalo TQ mediano de $L=15$ latidos. Como contrapartida, el uso de este intervalo TQ mediano aumentó el retardo de identificación de FA aproximadamente en $L/2$ latidos.

Teniendo presente otros trabajos previos que se han centrado en los registros de la base de datos MIT-BIH AF para el estudio de la detección de FA [9], el método aquí expuesto proporcionó similares resultados en sensibilidad, especificidad y exactitud. Sin embargo, la metodología desarrollada en este trabajo requiere de una métrica simple computada únicamente a partir de los últimos 15 latidos, lo que hace más sencilla la interpretación clínica y la implementación en tiempo real que en otros algoritmos previos, que suelen requerir varios índices combinados bajo complejos clasificadores.

5. Conclusiones

Este trabajo ha permitido comprobar que la RWE computada a cada intervalo TQ es capaz de proporcionar un robusto detector de FA bajo condiciones de un amplio rango de ritmos cardíacos y pequeños valores de amplitud de las ondas P y f. Así mismo, esta métrica ha permitido mejorar los resultados obtenidos en presencia de ruido mediante la computación de un intervalo mediano que, aunque introdujo un cierto retardo en la detección, resultó ser inferior al obtenido en la mayoría de trabajos previos.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada por los proyectos TEC2014-52250-R del Ministerio de Economía y Competitividad y PPII-2014-026-P de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.

Referencias

- [1] Potter BJ, Le Lorier, J. Taking the pulse of atrial fibrillation. *Lancet*, vol 386, 2015, pp 113-5.
- [2] Zoni-Berisso M, Lercari F, Carazza T, Domenicucci S. Epidemiology of atrial fibrillation: European perspective. *Clin Epidemiol*, vol 6, 2014, pp 213-20.
- [3] Menke J, Lüthje L, Kastrup A, Larsen J. Thromboembolism in atrial fibrillation. *Am J Cardiol*, vol 105(4), 2010, pp 502-10.
- [4] Chugh SS, Havmoeller R, Narayanan K, Singh D, Rienstra M, Benjamin J et al. Worldwide epidemiology of atrial fibrillation: a Global Burden of Disease 2010 Study. *Circulation*, vol 129(8), 2014, pp 837-47.
- [5] Zhang Y, Mazgalev TN. Ventricular rate control during atrial fibrillation and AV node modifications: past, present, and future. *Pacing Clin. Electrophysiol*, vol 27(3), 2004, pp 382-93.
- [6] Ahmad N, Kamal A. Asymptomatic atrial fibrillation and stroke risk. *J Pak Med Assoc.*, vol 64(3), 2014, p 362.
- [7] January CT, Wann LS, Alpert JS, Calkins H, Cigarroa JE, Cleveland JC Jr et al. 2014 AHA/ACC/HRS guideline for the management of patients with atrial fibrillation: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on practice guidelines and the Heart Rhythm Society. *Circulation*, vol 130(23), 2014, pp e199-e267.
- [8] De Sisti A, Leclercq JF, Halimi F, Fiorello P, Bertrand C, Attuel P. Evaluation of time course and predicting factors of progression of paroxysmal or persistent atrial fibrillation to permanent atrial fibrillation. *Pacing Clin Electrophysiol*, vol 37(3), 2014, pp 345-55.
- [9] S. Dash, Chon KH, Lu S, Raeder EA. Automatic real time detection of atrial fibrillation. *Ann Biomed Eng*, vol 37(9), 2009, pp 1701-9.
- [10] McSharry PE, Clifford GD, Tarassenko L, Smith L.A dynamical model for generating synthetic electrocardiogram signals. *IEEE Trans Biomed Eng*, vol 50(3), 2003, pp 289-94.
- [11] Stridh M, Sörnmo L. Spatiotemporal QRST cancellation techniques for analysis of atrial fibrillation. *IEEE Trans Biomed Eng*, vol 48(1), 2001, pp 19-27.
- [12] Martínez A, Alcaraz R, Rieta JJ. Application of the phasor transform for automatic delineation of single-lead ECG fiducial points. *Physiol Meas*, vol 31(11), 2010, pp 1467-85.
- [13] Mallat S, A Wavelet Tour of Signal Processing. Academic Press, 1999 (ISBN: 012466606X).
- [14] Sörnmo L, Laguna P. Biomedical Signal Processing in Cardiac and Neurological Applications. Elsevier Academic Press, 2005 (ISBN 0124375529).

Índice de variación de la onda T como predictor de muerte súbita cardíaca en pacientes con insuficiencia cardíaca en fibrilación auricular

A. Martín-Yebra^{1,2}, I. Cygankiewicz³, A. Bayés-de-Luna⁴, P. Laguna^{2,5}, E. Caiani¹, J.P. Martínez^{2,5}

¹ Dipartimento di Elettronica, Informazione e Bioingegneria, Politecnico di Milano, Milan, Italia, {albpilar.martin, enrico.cainai}@polimi.it

² Grupo consolidado BSICoS, Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón, IIS Aragón, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España, {laguna,jpmart}@unizar.es

³ Department of Electrocardiology, Medical University of Lodz, Lodz, Polonia

⁴ Institut Català de Ciències Cardiovasculars, Santa Creu i Sant Pau Hospital, Barcelona, España

⁵ CIBER en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Zaragoza, España

Resumen

La insuficiencia cardíaca, junto con la fibrilación auricular (FA) representa una de las principales causas de mortalidad en los países desarrollados, con una prevalencia especialmente alta en la población envejecida. Gran parte de estas muertes tiene lugar de manera repentina, comúnmente conocidas como muerte súbita cardíaca (MSC). La alta irregularidad en la respuesta ventricular en condiciones de FA hace inapropiado el uso de los índices electrocardiográficos más utilizados en la estratificación de riesgo, ya que requieren cierta estabilidad en ritmo. El objetivo de este estudio es doble: i) proponer un nuevo índice, apropiado para condiciones de ritmo irregulares, como es el caso de la FA, capaz de cuantificar los cambios en la repolarización ventricular y ii) evaluar su valor pronóstico en una población de pacientes con insuficiencia cardíaca en FA. Para ello, contamos con registros Holter de 24 horas de 176 pacientes (22 MSC). El índice de variación de la onda T (I_{TV} , de las siglas en inglés), cuantifica la variación promedio en la onda T en pares de latidos consecutivos bajo condiciones de ritmo estable (RR similar) de manera completamente automática. El índice I_{TV} presenta valores más elevados en el grupo de MSC en comparación con el resto de pacientes (mediana ($Q1;Q3$): 12.44(7.21;42.71) μV vs 8.57(5.63;14.08) μV , $p=0.06$). En un análisis de supervivencia, considerando la MSC como evento principal y definiendo el umbral como el percentil 75 de la distribución total de los valores de I_{TV} , los pacientes clasificados como $I_{TV}(+)$ resultaron tener una mayor asociación con la MSC (Hazard ratio(IC):3.217(1.36;7.58)/ μV , $p= 0.008$).

1. Motivación

La insuficiencia cardíaca representa una de las principales causas de morbilidad y mortalidad, dando lugar a un alto número de hospitalizaciones junto con la fibrilación auricular (FA) y, especialmente, en pacientes de edad avanzada (≥ 65 años). Sin embargo, no existe consenso sobre si la insuficiencia cardíaca predispone a padecer FA o bien si es la FA la que agrava esta insuficiencia, tal y como viene reportado en [1]. Es frecuente que ambas condiciones patológicas coexistan, incrementando exponencialmente la incidencia y prevalencia con la edad

y empeorando considerablemente la calidad de vida de los pacientes [2].

En concreto, la prevalencia de FA en pacientes con un grado medio-moderado de insuficiencia se encuentra entre el 10% y el 15% [1]. Además, en estos pacientes gran parte de las muertes tiene lugar de manera repentina, al poco tiempo de aparecer los primeros síntomas y, generalmente, como consecuencia de una arritmia ventricular. Este tipo de muerte se denomina comúnmente muerte súbita cardíaca (MSC).

Todavía muchas son las dudas sobre los posibles mecanismos de asociación entre la FA, la insuficiencia cardíaca y la MSC, y llegar a entender mejor esta cuestión resulta de vital importancia, con el fin de llevar a cabo unas estrategias de predicción y prevención lo más efectivas posibles. Las opciones terapéuticas están principalmente orientadas al control de la respuesta ventricular (frecuencia) y a la recuperación y mantenimiento del ritmo sinusal. Los desfibriladores automáticos implantables (DAIs) resultan efectivos en la protección de episodios de MSC, al revertir de manera automática cualquier arritmia detectada. Sin embargo, su uso no está generalizado y la relación coste-efectividad de esta opción es todavía baja, resultando todavía difícil identificar qué pacientes serían los más beneficiados, especialmente en FA.

La heterogeneidad en la repolarización ventricular, tanto espacial como temporal, que queda reflejada en la onda T de la señal electrocardiográfica (ECG), es uno de los índices usados para el diagnóstico y evaluación de riesgo de padecer MSC. La respuesta ventricular en condiciones de FA es altamente irregular, principalmente influenciada por las propiedades del nodo auriculo-ventricular y la electrofisiología auricular. Este fenómeno hace que el uso de índices electrocardiográficos estándar, como el intervalo QT, la dispersión del QT [3] o las alternancias de onda T (TWA) [4], no sea adecuado, ya que requieren de cierta estabilidad en el ritmo para ser calculados correctamente.

El objetivo de este estudio es proponer un nuevo índice sensible a variaciones en la repolarización ventricular, basado en la técnica de promediado selectivo en base a la frecuencia cardíaca así como evaluar su valor pronóstico en una población de pacientes con insuficiencia cardíaca en FA.

2. Población de estudio

Contamos con 176 pacientes ambulatorios (134 hombres, edad: 68.77 ± 10.22 años) diagnosticados de insuficiencia cardíaca sintomática (clase funcional II-III de la NYHA), pertenecientes al estudio prospectivo MUSIC (MUerte Súbita en Insuficiencia Cardíaca) y en FA. Contamos con un registro Holter de 24 horas por paciente (frecuencia de muestreo 200 Hz, dos o tres derivaciones ortogonales X, Y, Z, equipo ELA Medical, Sorin Gropup, Paris, Francia). Una descripción más detallada del estudio puede encontrarse en [5,6].

El estudio contó con un seguimiento de los pacientes cada seis meses, durante una mediana de 44 meses, incluyendo un total de 22 eventos de MSC, 24 muertes por otras causas cardíacas, 20 muertes de origen no cardíaco y 110 supervivientes. Todos los criterios de valoración del estudio fueron revisados y valorados por el correspondiente comité. El protocolo del estudio fue aprobado por los comités institucionales de investigación y todos los pacientes firmaron su consentimiento informado.

3. Métodos

En este trabajo hemos propuesto el uso de la técnica de promediado selectivo, que se basa en agrupar y promediar latidos precedidos por un RR similar [7,8], calculando en pares de latidos consecutivos las variaciones de la onda T promedio, agrupándolas en bins de RR estable.

3.1. Preprocesado

Todos los registros ECG han sido preprocesados, incluyendo la detección y clasificación de latidos usando el software Aristotle, [9] y filtrados, para eliminar las posibles oscilaciones de línea de base. Finalmente, se ha aplicado un filtro paso bajo (frecuencia de corte 15 Hz) para eliminar ruido fuera de la banda frecuencial de la onda T, con un diezmo posterior.

3.2. Técnica de promediado selectivo

La técnica de promediado selectivo ha sido ya utilizada para obtener promediados de complejos P-QRS-T precedidos por un RR similar y estable [7]. En primer lugar calculamos la serie de intervalos RR a lo largo de todo el registro, definiendo el intervalo RR asociado al latido i -ésimo como la diferencia entre las posiciones de pico R del latido i y el latido $(i-1)$, tal y como se ilustra en la Figura 1. A partir de ahí, procedemos del siguiente modo:

- 1) Definimos S como el conjunto de todos los pares de latidos consecutivos $(i, i+1)$ del registro. Se define S_k , $k = 1, \dots, K$, como los subconjuntos de pares de latidos de S cuyo $RR(i)$ pertenece al k -

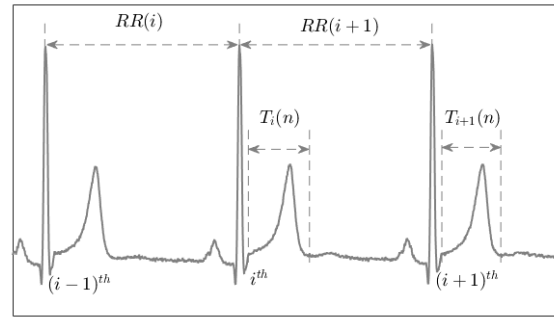


Figura 1: Señal ECG con los intervalos más significativos.

ésimo bin de RR, y además, $RR(i+1)$ es muy similar a $RR(i)$. Esto es:

$$S_k = \left\{ i: (i, i+1) \in S; RR(i) \in I_k \right. \\ \left. |RR(i+1) - RR(i)| \leq \delta/2 \right\}$$

$$I_k = \left\{ RR(i): \min RR + (k-1)\delta \leq \right. \\ \left. RR(i) \leq \min RR + k\delta - 1 \right\}$$

donde K es el número total de bins en el rango de RR considerado. Definimos bins de $\delta = 40$ ms, inicialmente entre $\min RR = 300$ ms y $\max RR = 1600$ ms.

- 2) Una vez agrupados los latidos según su frecuencia cardíaca, es posible asumir cierta estabilidad en ritmo. Calculamos entonces el vector-magnitud de la señal vectorcardiograma (VCG). Así pues, definimos la forma de onda de variación, asociada al par i -ésimo de latidos de S_k , como la diferencia de los dos complejos ST-T consecutivos. En notación vectorial:

$$\Delta T_{k,i}(n) = T_{k,i+1}(n) - T_{k,i}(n)$$

donde el vector $T(n)$ representa el complejo ST-T (ver Fig. 1).

- 3) Con el fin de llevar a cabo una estimación robusta, y dado que estas formas de onda podrían estar en contrafase unas con otras, es necesario un paso previo de alineamiento antes de llevar a cabo un promediado. Para ello replicamos la metodología previamente presentada en [10] en el contexto de TWA. Así pues, la forma de onda alineada queda definida como:

$$\Delta T_{k,i}^a = \text{sign}(\Delta T_{k,i}^T w_1) \Delta T_{k,i}$$

donde w_1 corresponde con el primer autovector asociado al mayor autovalor λ_1 de la matriz de correlación espacial $R_{\Delta T_k}$ de todas las $\Delta T_{k,i}$ (ver [10] para mayor detalle).

- 4) Finalmente, la variación de onda T asociada al k -ésimo bin, esto es, asociada al subconjunto S_k y denotada como ΔT_k^a , se define como la mediana de todas las formas de onda $\Delta T_{k,i}^a$ pertenecientes al bin.

3.3. Índice de variación de la onda T

El índice de variación de la onda T, I_{TV} , se define como el valor absoluto medio de la onda promedio de todas las ΔT_k^a :

$$I_{TV} = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N \left| \frac{1}{K} \sum_{k=1}^K \Delta T_k^a(n) \right|$$

con N igual al número de muestras del complejo ST-T.

3.4. Análisis estadístico

Los datos se presentan como mediana (cuartil 1; cuartil 3) para variables continuas. Se ha aplicado el test de Mann-Whitney para evaluar diferencias entre grupos. El análisis de supervivencia se ha llevado a cabo usando el estimador de Kaplan-Meier y el test de log-rank para la comparación de eventos. El valor pronóstico de I_{TV} en la predicción de MSC se ha evaluado con un análisis proporcional de Cox (un univariado y dos multivariados). Para todos los test, la hipótesis nula se rechaza si $p \leq 0.05$.

4. Resultados

En la Figura 2 se muestra la distribución media de los valores de I_{TV} en cada bin, para los grupos MSC y no-MSC. Es posible observar que las amplitudes difieren de un grupo a otro, especialmente en el rango de los 300 a ~650 ms, con valores más elevados para el grupo MSC. Teniendo en cuenta esta observación, decidimos restringir el cálculo de I_{TV} a un rango de RRs entre 300 y 660 ms (frecuencias cardiacas más rápidas de 90 latidos/min). $I_{TV}^{300-660}$ resultó ser más alto en el grupo MSC, en comparación con el no-MSC (24.9 (14.4;85.4) μV vs 17.1 (11.3;28.2) μV , $p=0.06$). No fue posible calcular el índice en 13 de los registros (1 MSC, 12 no-MSC), bien porque solo contenían 2 derivaciones (8), bien porque no se encontró con ningún intervalo que cumpliera las restricciones impuestas (5).

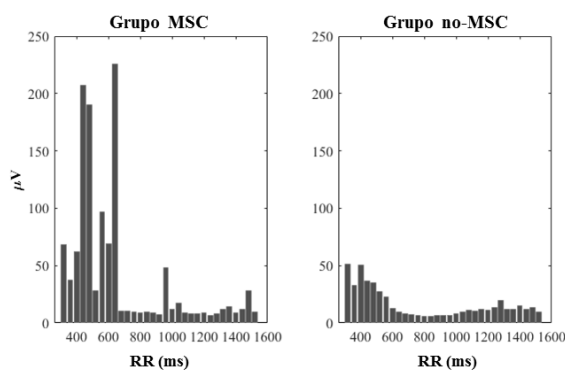


Figura 2: Distribución de los valores de I_{TV} para cada bin individual S_k en los grupos de MSC y no-MSC.

Los pacientes se clasifican como $I_{TV}(+)$ o $I_{TV}(-)$, definiendo el umbral como el 75 percentil de la distribución total de valores de $I_{TV}^{300-660}$ (32.23 μV), capaz de predecir los eventos de MSC de modo satisfactorio (ver Tabla 1). Además del análisis univariado, se han

construido dos modelos multivariados, ajustando por otras co-variables: (1) edad, sexo, clase NYHA, fracción de eyección $\leq 35\%$ y diabetes y (2): el uso de antiarrítmicos (betabloqueantes, digoxin, amiodarona) además de las variables del modelo 1. En todos los modelos, el $I_{TV}(+)$ ha sido la única variable asociada a la MSC, con hazard ratios de 3.22, 3.15 y 3.65 en el análisis univariado y los dos multivariados, respectivamente. En la Figura 3 se muestran las curvas de supervivencia asociadas a los dos grupos.

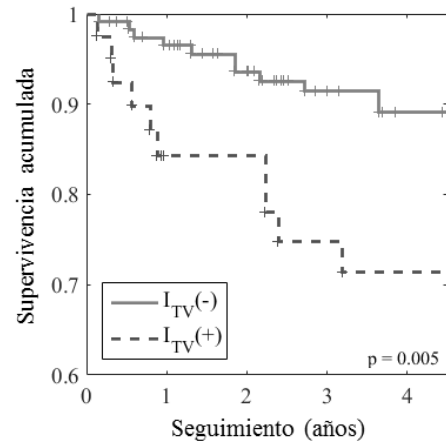


Figura 3: Curvas de supervivencia de muerte súbita cardiaca en función de la clasificación de pacientes como $I_{TV}(+)$ o $I_{TV}(-)$.

5. Discusión y conclusión

Los mecanismos que dan lugar a la asociación entre FA y MSC son todavía inciertos. De hecho, algunos estudios recientes sugieren que la FA actúa como agente proarrítmico en el ventrículo por sí misma, incrementando la susceptibilidad de padecer arritmias ventriculares (y, en consecuencia, el riesgo de MSC), mientras que otros se basan en la hipótesis de que la FA en realidad actúa a través de otros factores, como la insuficiencia cardiaca, dando lugar a una mayor incidencia de MSC [11]. Entender de un modo más preciso estos mecanismos es necesario para adoptar estrategias de tratamiento más eficientes, y encontrar en qué pacientes este riesgo es mayor, usando métodos no invasivos es, por tanto, de suma importancia.

En este estudio preliminar, basado en resultados observacionales, hemos encontrado que el índice de variación de la onda T, I_{TV} , calculando las variaciones consecutivas de la onda T siguiendo una técnica de promediado selectivo, es un predictor independiente de MSC en pacientes con insuficiencia cardiaca en FA.

En condiciones de ritmo sinusal, se ha demostrado el valor predictivo de diversos índices basados en la repolarización ventricular, como la dispersión del QT [3], o las TWA [5], entre otros. Sin embargo, la alta irregularidad de la respuesta ventricular en pacientes con FA, hace que no sea extensivo el uso de estos índices a esta condición clínica. Apenas existen datos de estratificación de riesgo de MSC en FA, basados en la repolarización. Solo en un estudio anterior basado en la información de ritmo cardiaco, que incluía a 155 pacientes de nuestra base de datos, los autores

	Univariado		Multivariado 1*		Multivariado 2**	
	Hazard ratio (95% IC)	p-valor	Hazard ratio (95% IC)	p-valor	Hazard ratio (95% IC)	p-valor
$I_{TV}^{300-660} \geq 32.23$ μV	3.22 (1.37;7.58)	0.008	3.15 (1.32;7.49)	0.01	3.65 (1.46;9.11)	0.005

*Ajustado por edad, sexo, clase de la *New York Heart Association*, fracción de eyección del ventrículo izquierdo $\leq 35\%$ y diabetes

**Incluye las covariables del modelo 1 más el uso de antiarrítmicos: betabloqueantes (103), digoxin (106) y amiodarina (27)

demostraron que una baja irregularidad en la serie de intervalos RR en términos de entropía aproximada (ApEn) durante FA, era también índice predictivo de mortalidad cardiaca [12]. En conjunto, los resultados de este estudio animan a continuar con la línea de investigación. Así, la evaluación de la combinación de ambos índices, uno basado en la repolarización y otro en el ritmo cardiaco, podría mejorar la predicción. Además, las observaciones previas de que secuencias de latidos con patrones corto-largo-corto pueden desencadenar episodios de TV/FV [13], sugieren la posibilidad de extender la metodología propuesta a otras secuencias de latidos. Y es que mejorar la estratificación de riesgo de MSC usando métodos no invasivos es uno de los mayores problemas de los sistemas de salud pública.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) y FEDER, dentro del proyecto TEC2013-42140-R; por el CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina a través del Instituto de Salud Carlos III y FEDER, y por el Grupo Consolidado BSICoS (T96) de la DGA (Aragón) y el Fondo Social Europeo (EU). Los cálculos fueron realizados en la plataforma ICTS NANBIOSIS, concretamente en la unidad de cálculo de alto rendimiento del CIBER-BBN en la Universidad de Zaragoza.

Referencias

- [1] Van Den Berg MP, Tuinenburg AE, Crijns HJGM et al. Heart failure and atrial fibrillation: current concepts and controversies. *Heart* 1997;77:309-313.
- [2] Maisel WH, Stevenson LW. Atrial Fibrillation in Heart Failure: Epidemiology, Pathophysiology and Rationale for Therapy. *Am J Cardiol* 2003;91:2D-8D.
- [3] Day CP, McComb JM, Campbell RW. QT dispersion: an indication of arrhythmia risk in patients with long QT intervals. *Br Heart J* 1990;64:342-44.
- [4] Verrier RL et al. Microvolt T-wave alternans physiological basis, methods of measurement, and clinical utility – consensus guideline by International Society for Holter and Noninvasive Electrocardiology. *J Am Coll Cardiol* 2011;58(13):1309-24.
- [5] Vázquez R, Bayés-Genís A, Cygankiewicz I, et al. The MUSIC risk score: a simple method for predicting mortality in ambulatory patients with chronic heart failure. *Eur Heart J* 2009;30:1088-1096.
- [6] Cygankiewicz I, Zareba W, Vázquez R, et al. Risk stratification of mortality in patients with heart failure and left ventricular ejection fraction > 35 %. *Am J Cardiol* 2009;103:1003-1010.
- [7] Badilini F, Maison-Blanche P, Childers R, Coumel P. QT interval analysis on ambulatory electrocardiogram recordings: a selective beat averaging approach. *Med Biol Eng Comput* 1999;37:71-9.
- [8] Caiani E G, Pellegrini A, Bolea J, et al. Impaired T-wave amplitude adaptation to heart-rate induced by cardiac deconditioning after 5-days of head-down bed-rest. *Acta Astronaut* 2013;91:166-72
- [9] Moody GB, Mark RG. Development and evaluation of a 2-lead ECG analysis program. *Computers in Cardiology* 1982;9:39-44.
- [10] Martín-Yebra A, Caiani EG, Laguna P, Monasterio V, Martínez JP. Circadian Modulation on T-wave Alternans Activity in Chronic Heart Failure Patients. XLII International Conference on Computing in Cardiology 2015;42:845-848.
- [11] Reinier K, Marijon E, Uy-Evanado A et al. The association between atrial fibrillation and sudden cardiac death: The relevance of heart failure. *JACC Heart Fail* 2014;2:221-227.
- [12] Cygankiewicz I, Corino V, Vázquez R, et al. Reduced Irregularity of Ventricular Response During Atrial Fibrillation and Long-Term Outcome in Patients with Heart Failure. *Am J Cardiol* 2015;116:1071-1075.
- [13] Denker S, Lehmann M, Mahmud R et al. Facilitation of ventricular tachycardia induction with abrupt changes in ventricular cycle length. *Am J Cardiol* 1984;53:508-515.

Direccionalidad del Flujo de Información de la Actividad Electroencefalográfica en la Enfermedad de Alzheimer

J. Poza¹, C. Gómez¹, A. Bachiller¹, P. Núñez¹, J. Gómez-Pilar¹, M. García¹, M.A. Tola-Arribas², M. Cano³, R. Hornero¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, {jespoz,cargom,margar,robhor}@tel.uva.es, alejandro.bachiller@uva.es, {pablo.nunez,javier.gomez}@gib.tel.uva.es

² Departamento de Neurología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España, mtola.nrl@gmail.com

³ Departamento de Neurofisiología Clínica, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España, mcanopo@saludcastillayleon.es

Resumen

El objetivo fundamental del estudio consistió en analizar cómo evoluciona la direccionalidad del acoplamiento funcional de la actividad neuronal conforme avanza la demencia debida a enfermedad de Alzheimer (EA). Se analizó una base de datos de registros electroencefalográficos (EEG) en estado basal de 19 controles sanos, 23 enfermos de Alzheimer con demencia leve y 17 enfermos de Alzheimer con demencia moderada. La dirección del flujo de información del acoplamiento funcional del EEG se estimó mediante la “directed transfer function” (DTF). Los resultados obtenidos sugieren que existe un patrón predominante de direccionalidad “parietal→frontal” en el flujo de información de la actividad EEG. Sin embargo, esta direccionalidad se ve progresivamente reducida conforme avanza la EA, fundamentalmente en las bandas alfa y beta.

1. Introducción

Diversos estudios han mostrado que la demencia por enfermedad de Alzheimer (EA) modifica la actividad electroencefalográfica (EEG) espontánea. Al comparar con sujetos sanos de edad avanzada, se ha observado de manera extensiva un aumento de los ritmos de baja frecuencia (delta y zeta) y un decremento de los de alta frecuencia (alfa y/o beta) [1]. Asimismo, diferentes medidas de conectividad lineal y no lineal han mostrado que los enfermos de Alzheimer se caracterizan por unos patrones de acoplamiento anormales [2]. Sin embargo, las medidas de conectividad utilizadas habitualmente no son capaces de reflejar la dirección del flujo de información que recoge el acoplamiento funcional de los diferentes ritmos EEG entre pares de electrodos. Este es un aspecto importante, ya que algunos estudios han sugerido que el envejecimiento patológico podría provocar una reducción de flujo de información de la actividad EEG en la dirección “parietal→frontal” [3, 4].

En este estudio, se ha estudiado cómo evolucionan los patrones de direccionalidad fronto-parietales de la conectividad funcional del EEG en diferentes fases de la EA. Para ello, se ha empleado una medida de conectividad efectiva: *directed transfer function* (DTF), que ha demostrado su utilidad para modelar la direccionalidad del flujo de información de los diferentes ritmos EEG [5].

2. Sujetos y adquisición de las señales

2.1. Participantes

La población bajo estudio estuvo formada por sujetos sanos y enfermos de Alzheimer. Sus características socio-demográficas y clínicas se resumen en la Tabla 1.

Los pacientes con demencia debida a EA fueron diagnosticados según los criterios clínicos de la NIA-AA (*National Institute on Aging and Alzheimer’s Association*) [6]. Los enfermos se dividieron en dos subpoblaciones según el grado de deterioro cognitivo, indicado por la puntuación en la prueba MMSE (*Mini-Mental State Examination*): (i) enfermos con demencia debida a EA leve, EA-l (MMSE entre 20 y 26 puntos), y (ii) enfermos con demencia debida a EA moderada, EA-m (MMSE entre 10 y 19 puntos). En el caso de los controles, C, estos se reclutaron entre personas de edad avanzada sin deterioro cognitivo y trastornos neurológicos o psiquiátricos previos.

Los participantes y los cuidadores de los enfermos fueron informados sobre los objetivos del estudio y el protocolo del mismo. Todos ellos dieron consentimiento por escrito para participar en el estudio. El Comité Ético del Hospital Universitario Río Hortega (HURH) de Valladolid (España) aprobó el protocolo del estudio, que fue diseñado según las consideraciones éticas de la Asociación Médica Mundial (Declaración de Helsinki).

2.2. Registros EEG

Las señales EEG fueron registradas mediante un sistema EEG de 19 canales (XLTEK[®], Natus Medical), situado en el Departamento de Neurofisiología Clínica del HURH. Concretamente, se registraron los canales: F_{p1}, F_{p2}, F_z, F₃, F₄, F₇, F₈, C_z, C₃, C₄, T₃, T₄, T₅, T₆, P_z, P₃, P₄, O₁ y O₂, según las especificaciones del sistema internacional 10-20. Se empleó una frecuencia de muestreo de 200 Hz. Los registros EEG se realizaron con los ojos cerrados y en reposo. Para prevenir episodios de somnolencia, se monitorizó la actividad EEG durante el registro.

Siguiendo el protocolo anterior, se adquirieron 5 minutos de actividad EEG espontánea de cada sujeto. Para cada

	C	EA-1	EA-m
Sujetos	19	23	17
Edad (años)	77.0 ± 3.9	79.5 ± 5.9	80.2 ± 5.9
Género (H:M)	9:10	11:12	6:11
Educación (A:B:C)	1:7:11	6:9:8	8:6:3
CRC	9.9 ± 4.6	8.6 ± 5.5	5.5 ± 4.8
MMSE	28.6 ± 1.3	22.6 ± 1.8	15.8 ± 2.5
IAF	9.9 ± 0.7	8.9 ± 1.1	8.6 ± 1.2

Tabla 1. Valores medios (\pm desviación estándar, DE) de los datos sociodemográficos y clínicos de las poblaciones incluidas en el estudio (C: controles; EA-1: EA leve; EA-m: EA moderada). H: hombres. M: mujeres. A: sin estudios. B: estudios primarios. C: estudios secundarios o superiores. CRC: cuestionario de reserva cognitiva. MMSE: Mini-Mental State Examination. IAF: individual alpha frequency.

registro se aplicó un protocolo de eliminación de artefactos basado en tres pasos: (i) eliminación de la componente de 50 Hz mediante un filtro de ranura y filtrado paso-banda entre 1 y 40 Hz mediante un filtro de ventana de Hamming; (ii) segmentación en épocas EEG de 5 s; y (iii) eliminación de épocas EEG contaminadas por artefactos mediante inspección visual. Para evitar la posible influencia en los resultados del diferente número de épocas libres de artefactos, se seleccionaron las 12 primeras de cada sujeto.

3. Métodos

3.1. Análisis espectral

En un primer paso, se realizó un análisis espectral de los registros EEG para analizar si se observaba una lentificación de la actividad neuronal. Para ello, se calculó la densidad espectral de potencia de las épocas EEG libres de artefactos, re-referenciadas a una referencia común [3]. La densidad espectral de potencia se estimó a partir de la transformada de Fourier de la función de autocorrelación y se normalizó dividiendo por la potencia total en la banda de frecuencia considerada. A partir de la DEP normalizada se calculó la potencia relativa en 7 bandas de interés: delta (1-4 Hz), zeta (4-8 Hz), alfa 1 (8-10 Hz), alfa 2 (10-12 Hz), beta 1 (13-20 Hz), beta 2 (20-30 Hz) y gamma (30-40 Hz) [3].

Asimismo, se estimó la frecuencia alfa individual (IAF, *individual alpha frequency*), definida como la frecuencia asociada con el máximo de la densidad espectral de potencia en el rango alfa extendido [7]. Los valores de la IAF para cada grupo aparecen en la Tabla 1. Como se puede ver suelen estar en el rango de la banda alfa 1 y permiten ilustrar el progresivo desplazamiento hacia frecuencias bajas que sufre el pico de la densidad espectral en la banda alfa conforme avanza la EA.

3.2. Directed Transfer Function

Antes de calcular la DTF, los registros EEG se normalizaron restando la media y dividiendo por la varianza, según las reglas estandarizadas de Kaminski y

Blinowska [5]. Un paso fundamental a la hora de calcular la DTF consiste en calcular el modelo multivariante autoregresivo (Mvar) [5]. En este estudio, como datos de entrada del modelo Mvar se utilizaron los registros EEG de 9 canales ($F_3, F_z, F_4, C_3, C_z, C_4, P_3, P_z$ y P_4), siguiendo la metodología establecida por Vecchio y Babiloni [4]. El modelo generado se empleó para estimar la dirección del flujo de información en los diferentes ritmos del EEG entre las regiones frontal y parietal ($F_3-P_3, F_z-P_z, F_4-P_4$), así como entre los dos hemisferios ($F_3-F_4, C_3-C_4, P_3-P_4$). De manera general, los coeficientes del modelo Mvar se pueden interpretar como la influencia causal de la señal registrada del electrodo i en la señal registrada del electrodo j , o del flujo de información entre los electrodos i y j [3, 4, 8]. En este estudio, el orden del modelo Mvar se estableció en 7, según la estimación proporcionada por el criterio de Akaike y las recomendaciones de estudios previos [3, 4]. Este valor ha demostrado ser válido para caracterizar los ritmos EEG tanto a baja como a alta frecuencia [3, 4].

La DTF se estimó a partir del modelo Mvar estimado [5],

$$DTF_{j \rightarrow i}^2(f) = \frac{|H_{ij}(f)|^2}{\sum_{m=1}^L |H_{im}(f)|^2}, \quad (1)$$

donde $H_{ij}(f)$ representa la función de transferencia del modelo Mvar entre los canales i y j , y L es el número de electrodos. La DTF describe la influencia causal del canal j en el canal i a la frecuencia f . La ecuación (1) define una versión normalizada de la DTF, que toma valores entre 0 y 1, dando lugar a un ratio entre el flujo de entrada desde el canal j al canal i y todos los flujos de entrada al canal i . Una diferencia sustancial entre $DTF_{j \rightarrow i}^2(f)$ y $DTF_{i \rightarrow j}^2(f)$ sugeriría un flujo de información asimétrico del electrodo i al electrodo j , permitiendo establecer la direccionalidad del flujo de información entre los dos canales [3, 4].

Para simplificar la visualización y el análisis estadístico de los resultados, la dirección de flujo de información anterior-posterior (Δ DTF anterior-posterior) se calculó como la diferencia entre los valores de DTF “parietal \rightarrow frontal” menos los valores de DTF “frontal \rightarrow parietal” [3, 4]. Valores positivos de Δ DTF anterior-posterior indican una prevalencia de la dirección “parietal \rightarrow frontal” de flujo de información respecto a la dirección “frontal \rightarrow parietal”. De manera similar, se calculó la dirección de flujo de información inter-hemisférica (Δ DTF inter-hemisférica).

3.3. Análisis estadísticos

En un primer paso, se exploraron los valores de potencia relativa (promediada para los electrodos considerados en el análisis de direccionalidad: $F_3, F_z, F_4, C_3, C_z, C_4, P_3, P_z, P_4$), Δ DTF anterior-posterior (promediada para los acoplamientos: $F_3-P_3, F_z-P_z, F_4-P_4$) y Δ DTF inter-hemisférica (promediada para los acoplamientos: $F_3-F_4, C_3-C_4, P_3-P_4$), para verificar que se ajustaban a una distribución gaussiana. En el caso de los valores de potencia relativa se aplicó una transformación logarítmica para obtener una distribución normal de los datos. A continuación, para cada uno de ellos se realizó un análisis ANOVA de medidas repetidas con el factor inter-grupo

‘grupo’ (C, EA-I y EA-m) y el factor intra-grupo ‘banda’ (delta, zeta, alfa 1, alfa 2, beta 1, beta 2, gamma). Se empleó la prueba de Mauchly para evaluar la hipótesis de esfericidad. Los grados de libertad se ajustaron mediante la corrección épsilon de Huynh-Feldt. La edad, el género, el nivel de educación, la reserva cognitiva y la IAF se incluyeron como covariables del modelo.

4. Resultados y discusión

4.1. Lentificación de la actividad EEG

La Figura 1 muestra la densidad espectral de potencia promediada en los canales considerados ($F_3, F_z, F_4, C_3, C_z, C_4, P_3, P_z, P_4$) para los tres grupos analizados. En ella se puede observar un desplazamiento progresivo de la potencia de la actividad EEG hacia frecuencias bajas conforme avanza la EA. El análisis ANOVA apoya la idea anterior, ya que reveló una interacción significativa entre los factores ‘grupo’ y ‘banda’ ($F(7.223,306)=2.110, p=0.043$). Los análisis post hoc indicaron que los valores de potencia relativa se ajustaban al patrón AD-m>AD-I (delta, $p=0.032$), C>AD-m (zeta, $p=0.002$; beta 1, $p=0.004$), y C>AD-I (zeta, $p=0.002$; beta 1, $p=0.011$). Estos resultados corroboran la progresiva lentificación de la actividad oscilatoria espontánea que se asocia con la evolución de la EA [1, 7].

4.2. Direccionalidad de la conectividad funcional de la actividad EEG

La Figura 2 ilustra los valores medios de ΔDTF anterior-posterior para cada banda de frecuencia, obtenidos tras promediar los valores de ΔDTF para los acoplamientos $F_3-P_3, F_z-P_z, F_4-P_4$. De manera general, los sujetos de control mostraron los mayores valores de ΔDTF anterior-posterior (i.e., los valores de DTF en la dirección “parietal→frontal” son mayores que los de la dirección “frontal→parietal”), con un pico en la banda alfa 2. El análisis ANOVA reveló una ligera interacción en la ΔDTF anterior-posterior entre los factores ‘grupo’ y ‘banda’ ($F(6.322,306)=2.052, p=0.058$). Los análisis post hoc mostraron que los valores ΔDTF anterior-posterior se ajustaban al patrón C>EA-m (alfa 1, $p=0.034$; alfa 2, $p=0.028$; beta 1, $p=0.073$) y C>EA-I (alfa 2, $p=0.081$; beta 1, $p=0.027$).

Para la ΔDTF inter-hemisférica, el análisis ANOVA no reveló ninguna interacción con la variable ‘grupo’. Asimismo, los valores de ΔDTF inter-hemisférica no mostraron cambios importantes entre grupos.

Nuestros resultados corroboran los hallazgos de estudios previos que han observado que el acoplamiento funcional global de los ritmos alfa es menor en enfermos de Alzheimer que en sujetos sanos [9]. Asimismo, apoyan la hipótesis planteada en estudios anteriores según la cual la EA provoca un deterioro del acoplamiento funcional fronto-parietal, mientras que el acoplamiento inter-hemisférico está relativamente preservado [10]. Algunas investigaciones relacionan la preponderancia de la direccionalidad “parietal→frontal” en el flujo de información del acoplamiento funcional del EEG con un

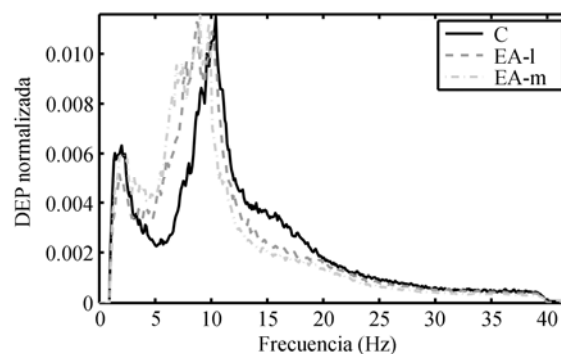


Figura 1. Densidad espectral de potencia (DEP) media para los tres grupos analizados, obtenida a partir del promedio de los electrodos considerados en el análisis ($F_3, F_z, F_4, C_3, C_z, C_4, P_3, P_z, P_4$).

flujo de señales sensoriales desde las áreas parietales a las frontales [3, 4]. Este flujo “parietal→frontal” podría estar activamente regulado por un flujo de reentrada “frontal→parietal” (posiblemente inhibitorio). La magnitud de ese flujo de reentrada podría aumentar en el caso de un incremento de la demanda cognitiva [11] o en presencia de alteraciones de la conectividad funcional como consecuencia de la EA [3]. Además, los resultados de nuestro estudio indican que la direccionalidad del flujo inter-hemisférico del acoplamiento funcional del EEG no se ve alterada en la EA. Esto podría estar relacionado con la reducción en magnitud del acoplamiento funcional inter-hemisférico para los ritmos de baja frecuencia del EEG, observada durante el envejecimiento normal y el patológico [12, 13].

4.3. Limitaciones y líneas futuras de investigación

Hay que tener en cuenta que la dirección del flujo de información se ha establecido en base a la diferencia entre dos direcciones recíprocas de la DTF. Esto requiere de una interpretación cuidadosa. Un valor nulo de ΔDTF indica que la magnitud de la direccionalidad de flujo de información entre dos canales es equivalente dentro del periodo de adquisición de la señal EEG. Es decir, que las magnitudes de $DTF_{j \rightarrow i}^2(f)$ y $DTF_{i \rightarrow j}^2(f)$ son igualmente grandes, igualmente pequeñas o ambas son cero, en el segmento EEG considerado. Sin embargo, esto no tiene por qué ser cierto en segmentos más cortos. Sería interesante que futuros estudios abordaran la evolución temporal de los valores ΔDTF , ya que permitiría profundizar en los mecanismos dinámicos de transferencia de información entre las diferentes regiones cerebrales.

5. Conclusiones

El presente trabajo se ha analizado la direccionalidad del flujo de información del acoplamiento funcional del EEG. Los resultados obtenidos sugieren que la EA provoca una progresiva reducción de los valores de DTF en la dirección “parietal→frontal”, especialmente en las bandas alfa y beta. En definitiva, el análisis de la dirección del flujo de información del EEG puede contribuir a avanzar en el conocimiento de los substratos neuronales de la EA, así como para delimitar potenciales biomarcadores.

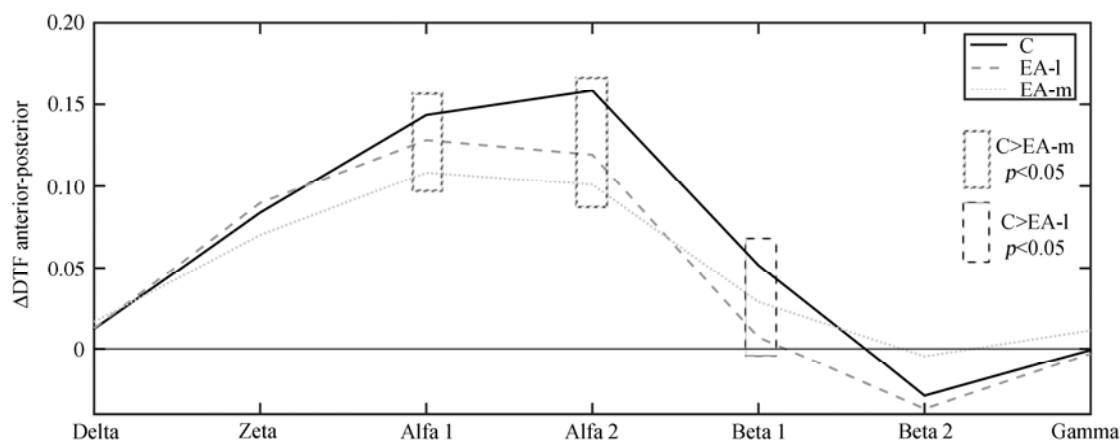


Figura 2. Medias globales de los valores Δ DTF anterior-posterior para los tres grupos analizados en las bandas de interés (delta, zeta, alfa 1, alfa 2, beta 1, beta 2 y gamma). Las medias se obtuvieron promediando los valores Δ DTF anterior-posterior de los tres pares de electrodos considerados (F_3 - P_3 , F_z - P_z , F_4 - P_4).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos: TEC2014-53196-R del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) y FEDER, y VA037U16 de la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León.

A. Bachiller y J. Gómez-Pilar cuenta con una ayuda FPI-UVA de la Universidad de Valladolid. P. Núñez disfruta de una ayuda "Promoción de empleo joven e implantación de la Garantía Juvenil en I+D+i" del MINECO y de la Universidad de Valladolid.

Esta investigación no habría sido posible sin la ayuda y la cooperación desinteresada de los pacientes y sus cuidadores, así como de los voluntarios sanos.

Referencias

- [1] Jeong J. EEG dynamics in patients with Alzheimer's disease. *Clinical Neurophysiology*, vol 115, 2004, pp 1490-1505 (ISSN: 1388-2457).
- [2] Babiloni C, Lizio R, Marzano N, Capotosto P, Soricelli A, Triggiani AI, Cordone S, Gesualdo L, Del Percio C. Brain neural synchronization and functional coupling in Alzheimer's disease as revealed by resting state EEG rhythms. *International Journal of Psychophysiology*, vol 103, 2016, pp 88-102 (ISSN: 0167-8760).
- [3] Babiloni C, et al. Directionality of EEG synchronization in Alzheimer's disease subjects. *Neurobiology of Aging*, vol 30, 2009, pp 93-102 (ISSN: 0197-4580).
- [4] Vecchio F, Babiloni C. Direction of information flow in Alzheimer's disease and MCI patients. *International Journal of Alzheimers Disease*, vol 2011, 2011, p 214580 (ISSN: 2090-0252).
- [5] Kamiński M, Blinowska KJ. A new method of the description of the information flow in brain structures. *Biological Cybernetics*, vol 65, 1991, pp 203-210 (ISSN: 1432-0770).
- [6] McKhann GM, et al. The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimer's and Dementia*, vol 7, 2011, pp 263-269 (ISSN: 1552-5260).
- [7] Poza J, Hornero R, Abásolo D, Fernández A, García M. Extraction of spectral based measures from MEG background oscillations in Alzheimer's disease. *Medical Engineering and Physics*, vol 29, 2007, pp 1073-1083 (ISSN: 1350-4533).
- [8] Blinowska KJ. Review of the methods of determination of directed connectivity from multichannel data. *Medical and Biological Engineering and Computing*, vol 49, 2011, pp 521-529 (ISSN: 1741-0444).
- [9] Stam CJ, van der Made Y, Pijnenburg YA, Scheltens P. EEG synchronization in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Acta Neurologica Scandinavica*, vol 108, 2003, pp 90-96 (ISSN: 1600-0404).
- [10] Babiloni C, et al. Abnormal fronto-parietal coupling of brain rhythms in mild Alzheimer's disease: a multicentric EEG study. *European Journal of Neuroscience*, vol 19, 2004, pp 2583-2590 (ISSN: 1460-9568).
- [11] Babiloni C, Vecchio F, Cappa S, Pasqualetti P, Rossi S, Miniussi C, Rossini PM. Functional frontoparietal connectivity during encoding and retrieval processes follows HERA model: A high-resolution study. *Brain Research Bulletin*, vol 68, 2006, pp 203-212 (ISSN: 0361-9230).
- [12] Kikuchi M, Wada Y, Koshino Y, Nanbu Y, Hashimoto T. Effect of normal aging upon interhemispheric EEG coherence: analysis during rest and photic stimulation. *Clinical EEG and Neuroscience*, vol 31, 2000, pp 170-174 (ISSN: 2169-5202).
- [13] Adler G, Brassens S, Jajcevic A. EEG coherence in Alzheimer's dementia. *Journal of Neural Transmission*, vol 110, 2003, pp 1051-1058 (ISSN: 1435-1463).

Análisis de la señal de oximetría mediante la densidad espectral de potencia y bispectrum en la ayuda al diagnóstico de la apnea infantil

F. Vaquerizo Villar¹, D. Álvarez González^{1,2}, G. C. Gutiérrez Tobal¹, V. Barroso García¹, L. Kheirandish Gozal³, A. Crespo Sedano², F. del Campo Matías^{1,2}, D. Gozal³, R. Hornero Sánchez¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, fernando.vaquerizo@gib.tel.uva.es

² Servicio de Neumología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España, fsas@telefonica.net

³ Dept. of Pediatrics, Pritzker School of Medicine, Biological Sciences Division, The University of Chicago, Chicago, Estados Unidos, dgozal@peds.bsd.uchicago.edu

Resumen

El Síndrome de la Apnea Hipopnea del Sueño (SAHS) es un trastorno respiratorio que puede originar consecuencias muy negativas para la salud de los niños. El test diagnóstico estándar es la polisomnografía (PSG), que es compleja, de elevado coste y disponibilidad limitada. El objetivo de este estudio es analizar la capacidad diagnóstica de la señal de saturación de oxígeno en sangre (SpO₂) procedente de la PSG nocturna en la ayuda al diagnóstico del SAHS pediátrico. Para conseguir este objetivo se han combinado características procedentes de distintas técnicas de análisis espectral, la densidad espectral de potencia (PSD) y el Bispectrum. Esta metodología se ha desarrollado en dos etapas: (i) extracción de características, en la que se han calculado parámetros espectrales procedentes de la PSD y el Bispectrum, y (ii) clasificación de características, en la que se ha construido un modelo de regresión logística (LR) a partir de los parámetros espectrales extraídos. Se han analizado 298 registros de SpO₂ divididos en grupo de entrenamiento (40%) y test (60%) para entrenar y validar, respectivamente, el método propuesto. El clasificador LR ha alcanzado una sensibilidad del 90.4%, una especificidad del 66.7% y una precisión del 88.8%, mejorando la precisión alcanzada por los índices de oximetría comúnmente empleados en la clínica. Estos resultados sugieren que el uso conjunto de información de la PSD y el Bispectrum incrementa la capacidad diagnóstica de los registros de SpO₂ y mejora el rendimiento de los índices de oximetría clásicos en la ayuda al diagnóstico del SAHS infantil.

1. Introducción

El Síndrome de Apnea Hipopnea del Sueño (SAHS) en la infancia es un trastorno respiratorio caracterizado por una obstrucción parcial prolongada de la vía aérea superior (hipopnea) y/o una obstrucción intermitente completa (apnea) que interrumpe la ventilación normal durante el sueño y los patrones normales del mismo [1].

El SAHS infantil tiene una prevalencia de entre el 1 y el 5% y sus repercusiones médicas incluyen alteraciones cardiovasculares, neuroconductuales y retraso en el crecimiento [1]. La técnica de referencia usada en el diagnóstico de SAHS en niños es la polisomnografía (PSG) nocturna [1]. La PSG es una prueba que implica la estancia en una unidad especializada y en la que se

registran múltiples señales biomédicas de los pacientes durante el sueño [1,2]. Sin embargo, la PSG es una prueba de elevado coste y que requiere la presencia del paciente y de personal especializado durante toda la noche en la unidad del sueño [1]. Además, la PSG es de disponibilidad limitada dando lugar a que el tratamiento más efectivo, la adenoamigdalectomía, presente largas listas de espera [2].

Estas limitaciones presentes en la PSG, y la prevalencia de la enfermedad, han llevado a la búsqueda de alternativas diagnósticas más sencillas [2]. Uno de estos métodos alternativos es la oximetría nocturna, en el que se registran las señales de saturación de oxígeno en sangre (SpO₂) y la frecuencia de pulso mediante un pulsioxímetro colocado en el dedo del paciente [3]. Debido a su simplicidad, se han desarrollado pequeños dispositivos portátiles comerciales que facilitan la realización de la prueba en el domicilio del paciente de forma no supervisada. Además, numerosos estudios han demostrado la utilidad de la señal de SpO₂ en la ayuda al diagnóstico del SAHS, tanto en adultos como en niños [4–7]. Por ello, en este estudio se plantea el análisis automático de la señal de SpO₂ para simplificar el diagnóstico del SAHS.

El presente estudio se realiza bajo la hipótesis de que la aplicación de diferentes técnicas de análisis espectral será de utilidad en el análisis automático de la señal de SpO₂ en la ayuda al diagnóstico del SAHS infantil. Estudios previos han analizado el espectro de los registros de SpO₂ empleando únicamente la densidad espectral de potencia (*Power Spectral Density*, PSD) [4,7]. En este contexto, el objetivo de este estudio es analizar, mediante distintas técnicas de análisis espectral, la capacidad diagnóstica de la señal de saturación de oxígeno en sangre (SpO₂) procedente de la PSG nocturna en la ayuda al diagnóstico del SAHS. Para conseguir este objetivo se han combinado características procedentes de diferentes técnicas de análisis espectral, la PSD y el *Bispectrum*. La metodología empleada en este trabajo se compone de dos fases: extracción y clasificación de características. En la fase de extracción se han aplicado dos técnicas de análisis espectral, la PSD y el *Bispectrum*, para obtener

características de la señal de SpO₂ que permitan diferenciar entre sujetos SAHS positivos y SAHS negativos. En la fase de clasificación, se combinan las diferentes características espectrales mediante Regresión Logística (*Logistic Regression*, LR) binaria con el objetivo de mejorar el rendimiento de las características individuales y de los índices de oximetría comúnmente empleados en la práctica clínica.

2. Sujetos y señales

En este trabajo se han analizado registros de SpO₂ correspondientes a 298 sujetos (165 niños y 133 niñas) procedentes de la unidad del sueño para niños del Comer Children's Hospital de la Universidad de Chicago (EE.UU). Todos los sujetos habían sido remitidos por sospecha clínica de SAHS. La muestra se compone de niños de ambos sexos de 0 a 13 años, y en todos los casos se obtuvo el consentimiento para la realización del estudio, que fue aprobado por el Comité Ético de la Universidad de Chicago.

La PSG se efectuó en el laboratorio de sueño entre las 22.00 y 08.00 h del día siguiente. Para la PSG nocturna, se monitorizó el sueño de los niños con el sistema polisomnográfico digital PolySmith (Nihon Kohden America Inc., CA, USA). Los eventos de apnea e hipopnea se definieron siguiendo las reglas de la academia americana de medicina del sueño [8]. Se consideró como diagnóstico positivo de SAHS un índice de apnea hipopnea (IAH) por hora de sueño igual o superior a 1 e/h, ya que, aunque no hay un consenso generalizado a la hora de fijar un único punto de corte estándar entre 1 y 5 e/h, sí se considera que con un IAH inferior a 1 e/h el niño no tiene SAHS y que para valores de IAH igual o superior a 5 e/h es recomendable tratamiento quirúrgico [9]. Los registros de SpO₂ fueron registrados a una frecuencia de muestreo de 25 Hz.

La población se dividió en grupo de entrenamiento (119 sujetos, 40%), empleado para optimizar los métodos de extracción de características y los coeficientes del modelo LR, y grupo de test (179 sujetos, 60%) empleado para evaluar el rendimiento diagnóstico del clasificador. La Tabla 1 muestra las características sociodemográficas y clínicas de la población bajo estudio.

3. Metodología

Los métodos de procesado automático de la señal de SpO₂ comprenden dos etapas: (i) extracción de características y (ii) clasificación de características.

3.1. Extracción de características

En esta primera fase se han extraído una serie de características espectrales de la señal de SpO₂ de diferente naturaleza (parámetros espectrales de la PSD y del *Bispectrum*) para intentar obtener la mayor información posible del espectro de la señal.

Para estimar la PSD de los registros de SpO₂ se aplicó el método no paramétrico de Welch con una ventana de Hamming de 2¹³ muestras (5.5 minutos), con

	Todos	SAHS negativo	SAHS positivo	p-valor
Sujetos (n)	298	44	254	–
Edad (años)	6 [4-9]	7.5 [6-12]	6 [3-9]	NS
Niños (n)	165 (55.6%)	27 (61.4%)	138 (54.3%)	NS
IMC* (kg/m ²)	18.37 [16.33-23.04]	18.29 [16.13-21.11]	18.37 [16.35-23.11]	NS
IAH (e/h)		0.52 [0.21-0.74]	5.42 [2.93-11.30]	< 0.001
Sujetos (n)	298	44	54	–

*IMC: índice de masa corporal

Tabla 1. Características socio-demográficas y clínicas de la población bajo estudio

solapamiento del 50% y transformada discreta de Fourier (DFT) de $N=2^{14}$ puntos [10]. Se determinó la banda de interés de la PSD como aquella región del espectro en la que se alcanzaban diferencias estadísticas significativas entre los grupos SAHS negativo y SAHS positivo de la población bajo estudio. Para ello, se han representado en la Figura 1 las PSD promedio en el conjunto de entrenamiento para cada grupo bajo estudio (SAHS negativos vs. SAHS positivos) y en la Figura 2 el p-valor del test de Mann-Whitney para cada frecuencia del espectro. Se consideró significativo todo p-valor < 0.001. La banda de frecuencias de interés de la PSD determinada ([0-0.091 Hz]) se parametrizó mediante las siguientes características [4,12]:

- Amplitud de pico (*AP*). Se determinó como el máximo de la PSD en la banda de interés.
- Potencia en la banda de interés (*PT*). Fue estimada como el área bajo la PSD en la banda de interés.
- Entropía cuadrática espectral (*SpecEn2*) en la banda de interés. *SpecEn2* es una medida de la regularidad en el espectro relacionada con la entropía de Shannon. Se define mediante la siguiente ecuación:

$$SpecEn2 = \sum_{i=1}^N p_i \cdot \log(p_i) \quad (1)$$

donde

$$p_i = \frac{PSD(f_i)}{\sum_{j=1}^{N_{bi}} PSD(f_j)}, i=1, \dots, N_{bi} \quad (2)$$

siendo N_{bi} el número de puntos de la PSD en la banda de interés.

El *Bispectrum* se define como la transformada de Fourier del cumulante de tercer orden de una serie temporal. Este se aplicó para detectar desviaciones de la linealidad, estacionariedad y gaussianidad de los registros de SpO₂. Se estimó el *Bispectrum* de manera no paramétrica empleando el mismo tamaño de ventana y número de puntos de la DFT que la PSD mediante la siguiente ecuación [11]:

$$B(f_i, f_j) = E[X(f_i) \cdot X(f_j) \cdot X^*(f_i + f_j)], i, j = 1, \dots, N \quad (3)$$

donde $X(f)$ es la DFT de cada registro de SpO₂.

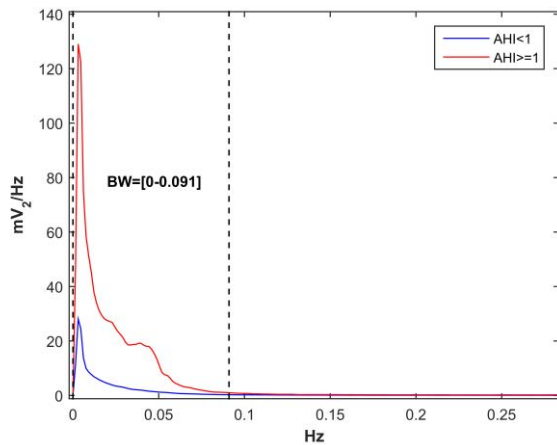


Figura 1. PSDs promedio para los grupos SAHS negativo y SAHS positivo y banda de interés.

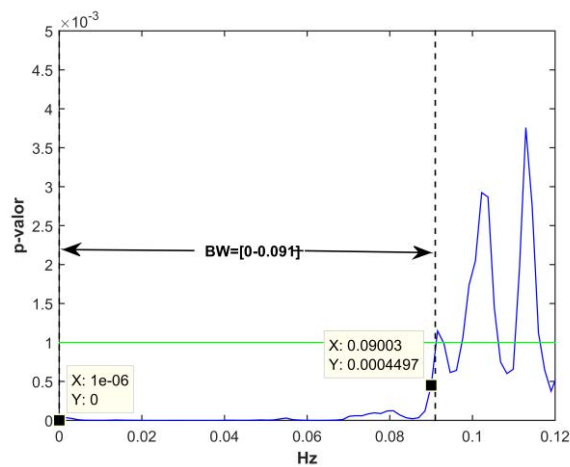


Figura 2. Evolución del p-valor para cada frecuencia.

En la banda de frecuencias de interés determinada a partir de la PSD ([0-0.091 Hz]) se obtuvieron las siguientes características del *Bispectrum* [12,13]:

- Amplitud de pico (*APBisp*). Se determinó como el máximo del *Bispectrum* en la banda de interés.
- Potencia en la banda de interés (*PTBisp*). Se estimó como el volumen del *Bispectrum* en la banda de interés.
- Entropía cuadrática (*BispEn2*) y entropía de fase (*PhaseEn*) del *Bispectrum* en la banda de interés. Permiten caracterizar la regularidad del *Bispectrum* [11].
- Media (*meanPa*) y varianza (*varPa*) del invariante del *Bispectrum* $P(a)$. Permiten identificar el caos de una señal biomédica a través del acoplamiento en fase de las componentes del *Bispectrum*. El invariante del *Bispectrum* $P(a)$ es la fase del *Bispectrum* integrado en la línea radial con pendiente igual a a [12,13].

3.2. Clasificación de características

Se aplicó el clasificador LR al conjunto de características extraídas para estimar la probabilidad de que se produzca

el suceso definido por una variable respuesta dependiente dicotómica (SAHS vs. no SAHS) en función de los valores que adopten una o varias variables independientes. LR modela la función de densidad de probabilidad como una distribución de Bernuilli y emplea la razón de máxima verosimilitud para determinar los coeficientes del modelo de clasificación [13].

3.3. Índices de oximetría clásicos

Se han incorporado al estudio los siguientes índices de oximetría basados en el número y duración de las desaturaciones, que se emplean habitualmente en la práctica clínica:

- Índice de desaturación de oxígeno del 2% (*ODI2*), 3% (*ODI3*) y 4% (*ODI4*). Número de descensos en la señal de oximetría mayores o iguales al 2%, 3% y 4% respecto del *baseline* por hora de registro, respectivamente.
- Tiempo total acumulado con $SpO_2 < 90\%$ (*CT90*). Porcentaje de tiempo de registro con valores de saturación por debajo del 90%.

3.4. Análisis estadístico

Se calculó el p -valor con el test no paramétrico de Mann-Whitney para determinar la existencia de diferencias estadísticamente significativas (p -valor < 0.001) entre los grupos bajo estudio. El análisis del rendimiento diagnóstico se hizo en términos de sensibilidad (*Se*), especificidad (*Sp*), valores predictivos positivo (*PPV*) y negativo (*NPV*), razones de verosimilitud positiva (*LR+*) y negativa (*LR-*) y precisión (*Acc*).

4. Resultados

4.1. Entrenamiento

Para determinar la banda de interés del espectro de manera cualitativa, la Figura 1 permite observar diferencias visuales en la distribución de las componentes espectrales de los grupos SAHS positivo y SAHS negativo. Mediante un análisis cuantitativo de la Figura 2 es posible comprobar que existe una región a muy bajas frecuencias ([0-0.091] Hz) en las que las diferencias significativas entre grupos se acentúan (p -valor < 0.001). Se ha seleccionado esta banda como banda de interés tanto para la PSD como para el *Bispectrum*.

Se obtuvieron las características espectrales y se construyeron las curvas *Receiver Operating Characteristics* (ROC) para determinar el umbral óptimo de clasificación para cada característica individual. Finalmente, se construyó el clasificador LR a partir de las características espectrales extraídas.

4.2. Test

La Tabla 2 recoge el rendimiento diagnóstico de la metodología propuesta en el conjunto de test. El parámetro *APBisp* alcanza la mayor precisión (83.2%) de las características individuales, superando en un 5% al mejor de los índices de oximetría clínicos (*CT90*). El

	Se	Sp	PPV	NPV	LR+	LR-	Acc
CT90	80.8	41.7	95.1	13.5	1.39	0.46	78.2
ODI2	76.6	66.7	97.0	17.0	2.30	0.35	76.0
ODI3	75.4	66.7	96.9	16.3	2.26	0.37	74.9
ODI4	76.6	50.0	95.5	13.3	1.53	0.47	74.9
AP	81.4	50.0	95.8	16.2	1.63	0.37	79.3
PT	77.8	50.0	95.6	13.9	1.56	0.44	76.0
SpecEn2	69.5	33.3	93.5	7.3	1.04	0.92	67.0
APBisp	86.2	41.7	95.4	17.9	1.48	0.33	83.2
PTBisp	80.2	41.7	95.0	13.2	1.38	0.47	77.6
BispEn2	69.5	25.0	92.8	5.6	0.93	1.22	66.5
PhaseEn	58.7	50.0	94.2	8.0	1.17	0.83	58.1
varPa	53.3	50.0	93.7	7.1	1.07	0.93	53.1
meanPa	54.5	33.3	91.9	5.0	0.82	1.37	53.1
LR	90.4	66.7	97.4	33.3	2.71	0.14	88.8

Tabla 2. Rendimiento diagnóstico de los parámetros individuales y el modelo LR en el conjunto de test

modelo LR construido a partir de las 9 características espectrales alcanzó una sensibilidad del 90.4%, una especificidad del 66.7% y una precisión del 88.8%, superando el mejor rendimiento diagnóstico individual.

5. Discusión y conclusiones

En este estudio se ha realizado un análisis automático de la señal de SpO₂ procedente de la PSG nocturna en la ayuda al diagnóstico del SAHS infantil. En la fase de extracción de características el parámetro *APBisp* alcanzó una precisión del 83.2%, aunque con un par sensibilidad-especificidad desbalanceado (86.2%-41.7%). Sin embargo, construyendo un clasificador LR a partir de las características espectrales se mejora en más de un 5% el rendimiento de los parámetros individuales, alcanzando una precisión del 88.8% con un par sensibilidad-especificidad más balanceado (90.4%-66.7%).

Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan con los de otros estudios recientes centrados en la ayuda al diagnóstico del SAHS infantil. Garde *et al.* [6], combina características de las señales de SpO₂ y de la frecuencia de pulso mediante análisis discriminante lineal (*Linear Discriminant Analysis*, LDA), alcanzando una sensibilidad del 88.4% y una especificidad del 83.6%. De manera similar, Cohen y de Chazal [7], emplean el clasificador LDA a partir de características procedentes de la señal de SpO₂ y el electrocardiograma, obteniendo una sensibilidad del 58% y una especificidad del 82.6%. En el estudio desarrollado por Gutierrez-Tobal *et al.* [5], se construyó un modelo LR a partir del ODI procedente de la señal de SpO₂ y características espectrales de la señal de flujo aéreo, obteniendo una sensibilidad del 85.9%, una especificidad del 87.4% y una precisión del 86.3%. La principal ventaja de este estudio es el empleo de una única señal, la señal SpO₂ monocanal, con una base de datos amplia (298 sujetos).

Este estudio presenta ciertas limitaciones. La base de datos bajo estudio debería tener un mayor balance entre el número de sujetos SAHS negativo y SAHS positivo, para que los resultados sean más generalizables. Además, se ha realizado solamente clasificación binaria, dejando para una investigación futura la clasificación según el grado de severidad de la enfermedad.

Como conclusión del trabajo, estos resultados sugieren que el uso conjunto de información de la PSD y el *Bispectrum* incrementa la capacidad diagnóstica de los registros de SpO₂ y mejora el rendimiento de los índices de oximetría clásicos en la ayuda al diagnóstico del SAHS infantil.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por los proyectos TEC2014-53196-R y PEJ-2014-P-00349 del Ministerio de Economía y Competitividad y FEDER, el proyecto VA037U16 y VA059U13 de la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León y el proyecto 265/2012 de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR).

Referencias

- [1] Alonso-Álvarez ML, Canet T, Cubell-Alarco M, Estivill E, Fernández E, Gozal D, Jurado-Luque MJ, Lluch-Roselló MA, Martínez-Pérez F, Merino-Andren M, Pin-Arboledas G, Roure N, Sanmartí FX, Sans-Capdevila O, Segarra-Isern J. Documento de consenso del síndrome de apneas-hipopneas durante el sueño en niños. *Arch Bronconeumol*, vol. 47, no. Supl 5, 2011, pp. 2–18.
- [2] Nixon GM, Kermack AS, Davis GM, Manoukian JJ, Brown KA, Brouillette RT. Planning adenotonsillectomy in children with obstructive sleep apnea: the role of overnight oximetry. *Pediatrics*, vol. 113, no. 1, 2004, pp. e19–e25.
- [3] Netzar N, Eliasson AH, Netzar C, Kristo DA. Overnight Pulse Oximetry for Sleep- Disordered Breathing in Adults. *CHEST J.*, vol. 120, no. 2, 2001, pp. 625–633.
- [4] Álvarez D, Hornero R, Marcos JV, Wessel N, Penzel T, Glos M, del Campo F. Assessment of Feature Selection and Classification Approaches To Enhance Information From Overnight Oximetry in the Context of Apnea Diagnosis. *Int. J. Neural Syst.*, vol. 23, no. 5, p. 1350020, 2013.
- [5] Gutiérrez-Tobal GC, Alonso-Álvarez ML, Álvarez D, del Campo F, Terán-Santos J, Hornero R. Diagnosis of pediatric obstructive sleep apnea: Preliminary findings using automatic analysis of airflow and oximetry recordings obtained at patients' home. *Biomed. Signal Process. Control*, vol. 18, 2015, pp. 401–407.
- [6] Garde A, Dehkordi P, Karlen W, Wensley D, ansermino JM, Dumont GA. Development of a screening tool for sleep disordered breathing in children using the phone oximeterTM. *PLoS One*, vol. 9, no. 11, 2014.
- [7] Cohen G, De Chazal P. Automated Detection of Sleep Apnoea in Infants using ECG and Oximetry Signals. in *Computing in Cardiology Conference (CinC)*, 2013, pp. 859–862.
- [8] Berry RB, Budhiraja R, Gottlieb DJ, Gozal D, Iber C, Kapur VK, Marcus CL, Mehra R, Parthasarathy S, Quan SF, Redline S, Strohl KP, Davidson Ward SL, Tangredi MM. Rules for scoring respiratory events in sleep: update of the 2007 AASM Manual for the Scoring of Sleep and Associated Events. *J Clin Sleep Med*, vol. 8, no. 5, 2012, pp. 597–619.
- [9] Tan HL, Gozal D, Ramirez HM, Bandla HPR, and Kheirandish-Gozal L. Overnight polysomnography versus respiratory polygraphy in the diagnosis of pediatric obstructive sleep apnea. *Sleep*, vol. 37, no. 2, 2014, pp. 255–260.
- [10] Welch PD. The Use of Fast Fourier Transform for the Estimation of Power Spectra: A Method Based on Time Averaging Over Short, Modified Periodograms. *IEEE Trans. Audio Electroacoust.*, vol. 15, no. 2, 1967, pp. 70–73.
- [11] Chua K, Chandran V, Acharya UR, Min C. Application of higher order statistics/spectra in biomedical signals—A review. *Med. Eng. Phys.*, vol. 32, no. 7, 2010, pp. 679–689.
- [12] Valenza G, Lanata A, Scilingo EP. The role of nonlinear dynamics in affective valence and arousal recognition. *IEEE Trans. Affect. Comput.*, vol. 3, no. 2, 2012, pp. 237–249, 2012.
- [13] Hosmer D, Lemeshow S. *Applied logistic regression*. John Wiley & Sons, 2004.

Bioinstrumentación

Jueves 24 de Noviembre

Ultra-low power photoplethysmography SpO_2 measuring techniques

C. Barriuso Medrano, J. Calpe Maravilla, C. Millán Navarro

Analog Devices, PCUV, C/ Catedrático Agustín Escardino, 6, Paterna, Valencia, Spain

Abstract

Photoplethysmography (PPG) is widely used to obtain vital signs such as the peripheral capillary oxygen saturation (SpO_2) or the heart rate (HR) non-invasively in real time. These techniques require a great amount of power in order to obtain reliable data, and its use is limited to mains powered devices. For this reason it is of great importance to find methods and algorithms that reduce its current consumption. Three techniques to optimize current consumption when obtaining PPG signals in order to obtain SpO_2 and heart rate (HR) are proposed in this study. Each of them takes advantage of the fact that to obtain these vital signs we only need the peaks of the PPG signal, which means that we may change the accuracy of the acquisition depending on the position within the pulse. The current consumption can be reduced by 55% in the sensor and 62% in the microcontroller.

1. Introduction

Body monitoring provides valuable information that properly conditioned can be used to obtain vital signs. Photoplethysmography is a technology that has been used for decades to obtain HR, SpO_2 or the breathing pace. It is a method that consists in measuring changes in the volume of a certain area of the body's limb using light. This volume will change with the heart beat so that when no blood is flowing through the capillaries it will be small compared to when blood is flowing. PPG works by pushing light pulses towards the skin and measuring the diffused light that has travelled through the tissues of the skin. The amount of light received will depend among other factors on the volume of the capillaries. HR can be obtained either by measuring the peak to peak time or by signal periodicity analysis.

By obtaining two PPG signals using two different wavelengths, SpO_2 can be obtained as can be deduced thanks to the Beer-Lambert's law [1,2]. This deduction establishes a relationship between the amplitude of the peaks of the PPG signals and the actual SpO_2 value.

In order to obtain these vital signs we only need the peaks of the PPG signals. Therefore the smartest approach is to sample the signal applying more power in the zones around the peaks whereas in the rest of the signal we can save power by reducing the sampling accuracy.

The aim of this study is to determine if the current consumption of SpO_2 and HR measurements using PPG can be optimized. Along the work a multi-purpose PPG signal measuring system was developed [3-5] using the Analog Devices ADPD144 sensor along with an ST

Cortex-M4 microcontroller to interface with the sensor that can change the configuration of the measurement to put into practice the power reduction techniques

2. Power reduction algorithms

In order to reduce the power consumption three algorithms are proposed. They change the sampling configuration depending on the position of the PPG signal (Peak or slope). We will difference between the High Performance Acquisition Period (HPAP), i.e. the peak zones, and Low Performance Acquisition Period (LPAP), i.e. the slopes. When changing the acquisition period type a different configuration will be sent to the sensor depending on the algorithm.

The sensor that has been used in this project, the ADPD144, offers a wide variety of configurations. We can set two different time slots for each sample, each of which can have a different configuration. Each slot controls its own LED and photodiode, which means that we can measure PPG signal with two different LEDs at different wavelengths. The sampling frequency is configurable, as well as the current pushed to the LEDs and the number of pulses averaged in each sample. Indeed, instead of sending a DC constant current to the LEDs, a configurable number of pulses are sent and averaged before sampling. This allows a better rejection of ambient light and helps to reduce the current consumption.

The algorithms described below are shown in Figure 1.

2.1. Pulses algorithm

This approach changes the number of pulses sent to the LEDs that will be averaged for each sample depending on the zone of the PPG signal. In the HPAP several pulses can be sent to improve signal quality whereas in the LPAP just one pulse is sent in order to reduce the current consumption while getting a coarse reading.

The drawback of this algorithm is the noise the PPG signal will show in the LPAP, as there will be no average as in the HPAP.

2.2. Start/Stop algorithm

The aim of this algorithm is to reduce the current consumption by completely switching off the sensor in the LPAP. This is the most aggressive approach and it will be the one that will save more current.

The main drawback of this algorithm is the probability of losing a peak. If the peak estimation algorithm does not

predict correctly where the next peak will take place, the sensor may be turned off in a peak zone, losing this way the peak. This scenario can happen in patients with large HRV or in an inadequate measuring environment, where additional noise can distort the PPG signal

2.3. Sampling frequency algorithm (Fs)

The proposal of this algorithm is to dynamically change the sampling frequency depending on the position of the PPG signal. This way the signal will be sampled with a high Fs in the HPAP and with a low Fs in the LPAP. This seems to be the most sensible approach. Peaks will not get lost as long as the LPAP Fs is acceptable. Moreover the signal will not be noisier as in the pulses algorithm.

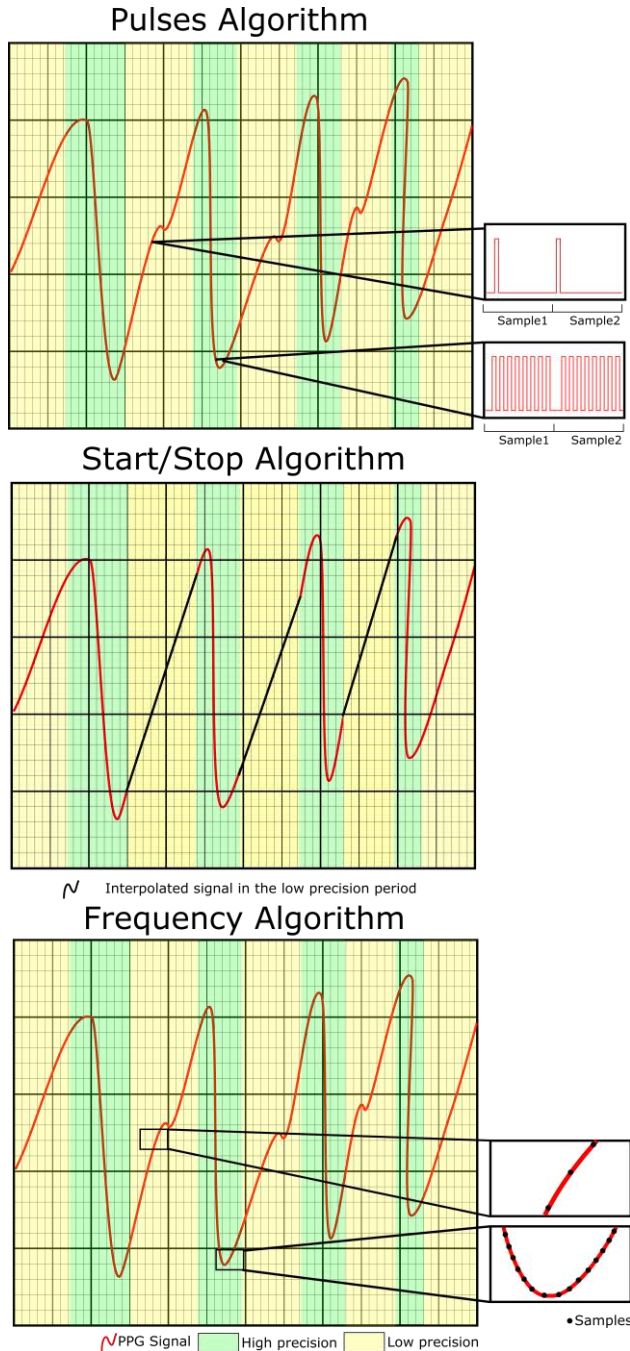


Figure 1. Proposed current reduction algorithms

3. Signal filtering

Before actually applying these algorithms we must identify the PPG signal peaks. In order to obtain these peaks a custom filter has been designed. Filtering the PPG signal has to meet some requirements. It has to have a linear phase so that the group delay is constant. This group delay has to be kept as small as possible so that we can run the algorithms in real time. Moreover the filter has to reject the signal noise as well as the dicrotic notch as this can be misunderstood as a regular peak. Last but not least the coefficients of the filter should be integers so that filtering does not take too long.

The designed filter is a combination of a comb filter and a moving average filter. It has been designed as a band-pass filter around the frequencies of the heart rate: 0.66 Hz for 40bpm and 3.7 Hz for 220bpm. The moving average filter will get rid of the signal noise, as it is a LPF. The comb filter will apply a derivative to the resulting signal, giving this way the location of the original signal peaks in the zero crosses. Taking into account the group delay of the filter we will be able to locate the peaks in the original signal.

The notches of these filters are located at:

$$f_{notch,comb} = k \frac{fs}{N} \quad \forall k \in \mathbb{N}$$

$$f_{notch,movAvg} = k \frac{fs}{M} \quad \forall k \in \mathbb{N} - \{0\}$$

For a comb filter with N+1 coefficients and a moving average filter with M coefficients:

Index	0	1	...	N-1	N
Comb	1	0		0	-1

Table 1. Comb filter numerator coefficients

Index	0	1	...	M-1
Mov.Avg.	1	1		1

Table 2. Mov.Avg. filter numerator coefficients

Applying this filter to the original signal will return a signal in which zero-crosses represent signal peaks delayed and the slope of the filtered signal at that point will determine if the peak is a local maximum or a local minimum. The total filter is shown in Figure 2.

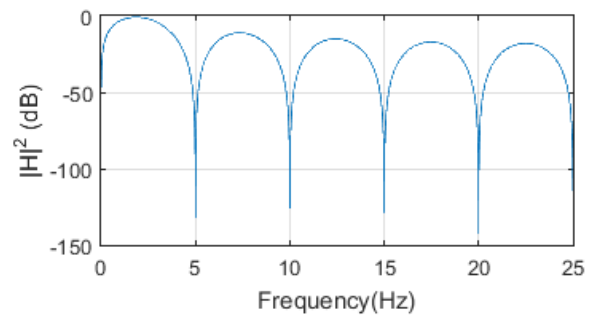


Figure 2. Total filter magnitude

4. Peak estimation

After filtering the signal we will locate the peaks. To put into practice the algorithms explained in Section 2 we have to estimate where the next peak will take place. At the beginning of each heart rate period this estimation is obtained so that we can set the LPAP configuration at the desired percentage of the current heart period and go back to the HPAP at a certain percentage as well.

In order to estimate the next peak the previous 10 peak to peak periods are taken into account. They may be weighted so that the most recent periods are more representative than the older ones. Several weighting methods were tested: equal weighting, linear weighting and exponential weighting. We concluded that the one that showed better results was the linear weighing estimator. For this reason, in order to determine where the next peak will take place we use this formula:

$$Peak_{i+1} = Peak_i + \frac{\sum_{j=0}^9 (10-j)(Peak_{i-j} - Peak_{i-j-1})}{45}$$

5. Signal conditioning

The algorithms explained in Section 2 modify the ideal PPG signal in order to reduce current consumption. The start/stop algorithm will turn off the sensor during the LPAP, and therefore we will not have samples for that period of time. On the other hand the Fs algorithm will change the number of samples received per second in the LPAP. Finally, the pulses algorithm will return the PPG signal attenuated in the LPAP as we are integrating less pulses.

As filtering requires the input signal to have the same sampling characteristics along the measurement, we will have to condition the incoming signal from the sensor so that it can be filtered. Depending on the algorithm we will modify the signal in a different way. In the Start/Stop algorithm we will interpolate the samples we have not obtained. We will create a slope between the last sample obtained in the previous HPAP and the new sample of the new HPAP. When it comes to the Fs algorithm, we will have to interpolate the signal in the LPAP so that it has the same sampling frequency as in the HPAP. We will apply a linear interpolation in this case. Finally, in the pulses algorithm we will normalize the signal to the number of pulses sent in the HPAP so that the LPAP has the same average value.

This way the filter will work as expected, filtering this PPG signal with constant Fs and shape.

6. Current consumption evaluation

It is necessary to differentiate between the current consumption of the microcontroller and the current consumption of the sensor (including the LEDs). The created algorithms will reduce the consumption of the sensor, however they may increase the consumption of the microcontroller under certain circumstances. This is because the microcontroller will have to face the extra processing load of the algorithms. Nevertheless we have to take into account that with the Start/Stop and the Fs

algorithms less samples are obtained and therefore the consumption of the microcontroller will be reduced as well.

6.1. Measuring the consumption of the sensor

The sensor we have used for this study has two different supply lines. One of them is used in the sampling and ADC stage and the other one feeds the LEDs. For this reason two separate consumptions were measured, one for each line. Two 1 Ω sensing resistors were introduced in the supply lines. These two resistors will provoke a voltage drop depending on the current flowing. This voltage drop however will be rather small, and for this reason we will need two instrumentation amplifiers with its inputs hooked to the terminals of the resistors to magnify the voltage drop. This way we will obtain the average current consumption of each line.

6.2. Measuring the consumption of the microcontroller

In order to obtain the consumption of the microcontroller an estimation will be used. The average time of the power reduction algorithms will be measured. With this figure and the average consumption of the microcontroller provided by the manufacturer we will obtain the total average consumption. We will take into account that the microcontroller sleeps in the time periods in which it is not processing.

7. Results

We will separate the current consumption of the sensor and the microcontroller

7.1. Sensor consumption results

To obtain these results, each algorithm was run 10 times for 10 seconds. The consumption of the sensor was obtained as well, so that we can calculate the reduction percentage that can be achieved with these algorithms.

Algorithm	LPAP Cfg	% Reduction	Mean (mA)
None	8 Pulses	0	2.4
	200 Hz ODR		
Pulses	400 Hz Fs	36	1.57
	1 Pulse		
Fs	200 Hz ODR	39	1.47
	400 Hz Fs		
Fs	8 Pulses	48	1.25
	50Hz ODR		
Fs	50Hz Fs	51	1.18
	8 Pulses		
Start/Stop	-	52	1.16

Table 3. Current consumption of the sensor

These results were obtained for a subject with a 60bpm mean heart rate. The LPAP was configured to start at 30% of the estimated beat to beat period, and to stop at 85%.

7.2. Microcontroller consumption results

The consumption of the microcontroller was estimated as explained in Section 6.2. With this information and the average consumption of the microcontroller in the active mode (40mA) and in sleep mode (390uA) we can calculate the average current consumption of the microcontroller with the algorithms. Several factors have to be taken into account when estimating the consumption. One of them is the execution time of the algorithms that is shown in Table 4.

Algorithm	Pulses	Start/Stop	Fs
Time (μ s)	376.2	379.3	376.1

Table 4. Execution time of the algorithms

Another important factor is the depending on the heart rate. We will not always be able to start the LPAP period as desired due to the group delay of the filter. This is because the maximum peak will not be detected on time. This scenario usually happens when the HR is higher than 90 bpm. For this reason the microcontroller consumption will depend on the heart rate as well. In Figure 3 the average microcontroller consumption has been plotted.

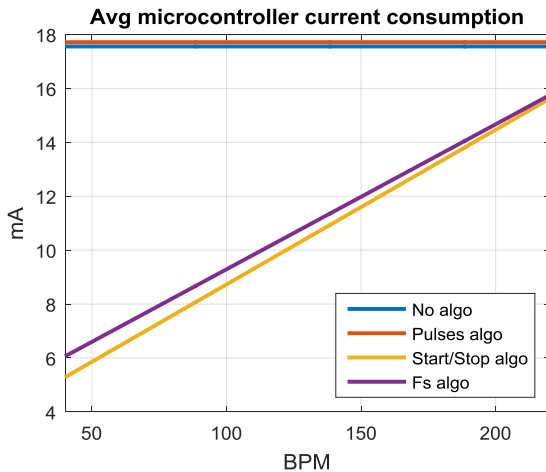


Figure 3. Average microcontroller consumption

As we can see in Figure 3 the current consumption with the algorithms running can be reduced in the Start/Stop and in the Fs algorithms. This is because the processor has to obtain less number of samples from the sensor, current. The current consumption that can be saved with the Start/Stop algorithm for a heart rate of 60bpm is 11mA for this microcontroller, which means a 62.6% current reduction in the microcontroller. As we can see, the achievable current reduction with the Fs algorithm is almost the same. This is because the Fs in the LPAP period is relatively low (25Hz) and therefore the current consumption drops.

8. Conclusion

Three algorithms have been proposed to reduce the current consumption when obtaining vital signs such as HR or SpO_2 using PPG techniques. These techniques take advantage of the fact that we only need the peaks of the PPG signal to obtain these vital signs. These algorithms change the sampling configuration depending on the position within the PPG signal.

We have concluded that it is possible to implement these algorithms in real time, and therefore it is possible to reduce the current consumption of the overall system. The achievable current reduction in the ADPD144 photometric sensor that has been used in this project is 52% using the Start/Stop algorithm. When it comes to the microcontroller the current reduction will depend on the heart rate, however we can achieve a 62.6% of current reduction with an average 60bpm HR.

The algorithm that performs better is the Fs algorithm and therefore is the recommended one. It changes the sampling frequency depending on the location of the PPG signal, however it is always sampling. For this reason the measurement will be more reliable compared to the Start/Stop algorithm. This last one can perform poorly if the peak estimation does not work properly as a consequence of a great HRV or an excessive measurement noise. Lastly, the pulses algorithm performs fine, however the current that can be saved with this algorithm is not as high as with the other two.

Finally, the three algorithms perform properly on subjects with normal HRV. No SpO_2 or HR degradation has been observed along the tests carried out. These techniques suit applications in which these vital signs can be obtained coarsely.

9. Acknowledgements

This study has been developed as a part of an internship in Analog Devices S.L.U. The company has given support to the project.

10. References

- [1] Webster J.G. Design of pulse oximeters. *Medical Science Series*. New York, NY 10016: Taylor and Francis Group, 1997. (ISBN: 9780750304672)
- [2] Zijlstra W.G., Buursma A., Meeuwse van der Roest W.P. Absorption Spectra of Human Fetal and Adult Oxyhemoglobin, De-Oxyhemoglobin, Carboxyhemoglobin, and Methemoglobin. *CLIN CHEM*.37/9, 1633-1638, 1991.
- [3] Michael JP. Embedded C, London: Addison-Wesley, 2002 (ISBN: 020179523X).
- [4] David CK. Matlab Programming, Upper Saddle River: Pearson Education, 2004 (ISBN: 013035127X).
- [5] Antonio ML., Joaquim RF. LabVIEW 7.1: programación gráfica para el control de instrumentación, Madrid etc. : Thomson, D.L., 2005 (ISBN: 9788497323918)

Sistema inalámbrico para el seguimiento de pacientes con insuficiencia cardíaca basado en la medida localizada de bioimpedancia

J Rosell-Ferrer¹, A M Campos-Pareja², A López-Marín¹, J Rubió-Pons¹, S Borreguero³, A Ordoñez², E Gutierrez-Carretero⁴

¹Department d'Enginyeria Electrònica, Universitat Politècnica de Catalunya, Barcelona, España, javier.rosell@upc.edu

²Instituto de Biomedicina de Sevilla IBIS, Sevilla, España

³Talemnology, Sevilla, España, samuelborreguero@talemnology.com

⁴Instituto de Biomedicina. Área del Corazón, H.U. Virgen del Rocío. Universidad de Sevilla, Sevilla, España

Resumen

En el manejo de la Insuficiencia Cardíaca (IC) una necesidad no cubierta es detectar, de forma temprana y en el ámbito extra-hospitalario, la retención de líquido a efectos de evitar el alto número de reingresos que por este motivo se generan. El objetivo de este trabajo es evaluar un nuevo dispositivo que se ha desarrollado para esta aplicación basado en la medida localizada de la bioimpedancia eléctrica en la pierna. El sistema mide a 4 hilos a 6 frecuencias distintas entre los 5 kHz y los 200 kHz. Se ha realizado una validación del prototipo comparándolo con un equipo comercial de altas prestaciones y se han evaluado la exactitud y repetitividad de las medidas. La representación de los datos de espectroscopia en el plano real-imaginario parece un buen indicador del estado hídrico. Resultados preliminares en voluntarios y en pacientes de IC muestran unas variaciones entre los pacientes y los voluntarios superiores a la variabilidad en un voluntario sano a lo largo de varias medidas en varios días.

1. Introducción

En los países desarrollados, aproximadamente un 2% de la población adulta padece insuficiencia cardíaca (IC), una prevalencia que aumenta con la edad. Es inferior al 1% antes de los 50 años y posteriormente se duplica con cada década hasta superar el 8% entre los mayores de 75 años [1-2].

El diagnóstico de la IC puede ser difícil. Muchos de los síntomas de la IC no la discriminan, por lo que son de poco valor diagnóstico [3]. Clínicamente, la aparición de síntomas y su empeoramiento con el tiempo se asocian a deterioro de la calidad de vida, la capacidad funcional y episodios de descompensación que resultan en hospitalización (que suele ser recurrente y costosa para los servicios sanitarios) y muerte prematura [4].

No existen métodos simples y confiables para valorar con precisión el estado hídrico de los pacientes con insuficiencia cardíaca [5]. El manejo clínico actual de esta situación se basa en la recomendación al paciente de que aprenda a reconocer signos de alarma [6]. El signo más aceptado es un aumento de 2 kg de peso en 2 días. En caso de detectar este aumento brusco, se recomienda al paciente de que avise a su médico.

Publicaciones anteriores han demostrado la capacidad de la espectroscopia de impedancia eléctrica como herramienta para la evaluación precisa del estado de hidratación, especialmente en la insuficiencia renal, pero también en la insuficiencia cardíaca [7]. En la IC, la mayor parte de la investigación es en sistemas de medida global de la impedancia [7-8] o en sistemas ubicados en el pecho que miden bioimpedancia y que pretenden detectar la congestión pulmonar [9-12].

El método basado en el cambio de peso en dos días es poco específico y da una alerta demasiado tardía. También es poco específico el método de bioimpedancia global y es engorroso de realizar ya que requiere de cables de conexión largos entre el equipo y los electrodos. El problema de los sistemas adhesivos o “wearables” en el tórax ha sido su baja sensibilidad y problemas de usabilidad.

El objetivo del sistema a desarrollar es poder darle al paciente un dispositivo fácil de usar para poder detectar, de forma objetiva, el inicio de la descompensación de líquidos y así poder modificar el tratamiento en fases más tempranas, lo que reduciría los costes asociados a las readmisiones.

2. Materiales y Métodos

2.1. Sistema diseñado

El sistema diseñado (denominado IVOL) se basa en un dispositivo comercial para mediciones de impedancia a dos hilos (AD5933) al que se le añade una electrónica analógica para pasar a una medida a cuatro hilos (front-end) y un microprocesador y un módulo de comunicación Bluetooth (ver figura 1). El front-end está constituido por una fuente de corriente controlada por tensión y un amplificador de instrumentación de alta impedancia de entrada. La salida en tensión del amplificador se convierte a corriente y se conecta al terminal de medida de corriente del AD5933.

El control del sistema y la presentación de los resultados se hace con un teléfono inteligente a través de una

comunicación Bluetooth Classic y una aplicación sobre Android propia.

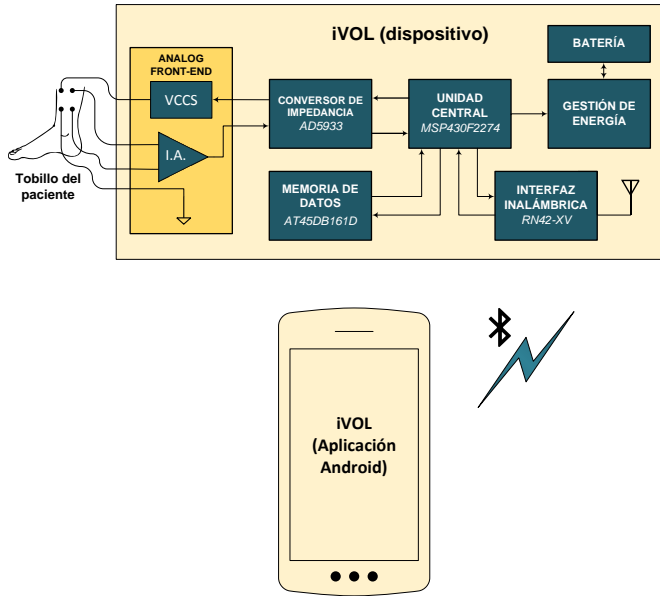


Figura 1. Esquema de bloques del sistema diseñado

2.2. Especificaciones sistema iVOL

El sistema diseñado tiene un rango dinámico de hasta 300 Ω, con una resolución de 0,1 Ω. Las impedancias obtenidas se muestran en la pantalla como módulo de la impedancia y fase en grados a las frecuencias seleccionadas. Las principales especificaciones son:

- Frecuencias de medida: 5, 10, 20, 50, 100 y 200 kHz
- Rango dinámico: 10 a 300 Ω. Resolución de 0.1 Ω
- Exactitud: +/- 5% (10 a 100 Ω)
- Resolución de fase: 0.01 grados
- Tiempo de medida: 8 segundos (las 6 frecuencias)

2.3. Método de medida

La medida de impedancia localizada se obtiene en la extremidad inferior con un método de 4 electrodos con electrodos de ECG comerciales, con una distancia entre electrodos de 6 cm y 3,5 cm entre inyectores y detectores de tensión (figura 2). La inyección de corriente se realiza de forma longitudinal respecto a la pierna (separación de L). La detección de tensión se realiza en los electrodos que están en paralelo separados a una distancia D.

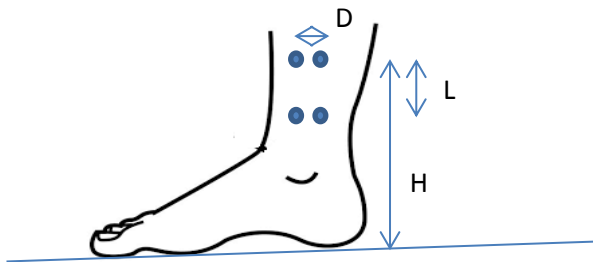


Figura 2. Colocación de los electrodos en la zona del tobillo. Distancias entre los centros de los electrodos: D=3,5 cm, L=6 cm. Distancia desde la planta del pie a los electrodos superiores: H=20 cm

2.4. Protocolo de medida

El sistema diseñado tiene la ventaja de fijar de forma muy precisa las distancias entre los electrodos gracias a unas fijaciones flexibles para adaptarse al contorno de la pierna pero que mantienen una separación constante (ver figura 3). Esto es necesario ya que la impedancia medida depende en gran medida de estas distancias. De esta forma, primero se colocan los electrodos sujetos al dispositivo, se quitan las protecciones, y se adhieren los 4 electrodos a la vez en el lugar indicado.

En una primera fase, se utilizaron electrodos 3M RedDot 2560 con un equipo de bioimpedancia comercial que es considerado un estándar en este campo, el SFB7 de Impedimed (Australia). Posteriormente, se usaron otros electrodos de ECG (más económicos) con el mismo equipo y con el prototipo desarrollado para evaluar las posibles limitaciones en la exactitud y repetitividad de las medidas.

Para verificar el sistema se han medido diversos voluntarios. En estas pruebas se ha evaluado la repetitividad y el efecto de la posición del cuerpo en la medida de la impedancia, en especial el efecto de estar sentado, de pie o tumbado. Posteriormente se ha medido en nueve pacientes con IC con diferentes grados de acumulación de líquido. Las medidas en los pacientes siempre se han realizado con el paciente encamado y por la mañana.



Figura 3. Prototipo actual de demostración

Para poder realizar un ajuste al modelo de relajación de Cole y una representación en el plano complejo, los datos originales de módulo y fase se han convertido a parte real y parte imaginaria (cambiada de signo), como es habitual en este campo.

3. Resultados

Con la disposición de electrodos propuesta, las mediciones en voluntarios sanos con el SFB7 mostraron valores entre 35-45 Ω para la parte real y de 4 a 7 Ω para la parte imaginaria.

Las mediciones confirman la alta sensibilidad de bioimpedancia localizada a los cambios en la hidratación de los tejidos subyacentes, pero también los errores, especialmente en alta y baja frecuencia, producción por la impedancia de electrodo-piel. En la Figura 4 pueden observarse los resultados de un barrido en frecuencia del SFB7 entre 1 kHz y 1 MHz. Se puede observar que a frecuencias por debajo de 5 kHz los puntos aparecen en

amarillo lo que indica un error estimado por encima del 5%. Igualmente, a partir de 400 kHz las medidas tienen un error por encima del 5%. Hay que tener en cuenta que el caso mostrado es un mejor caso ya que la medida está realizada con los electrodos que han dado mejores resultados (3M RedDot 2560).

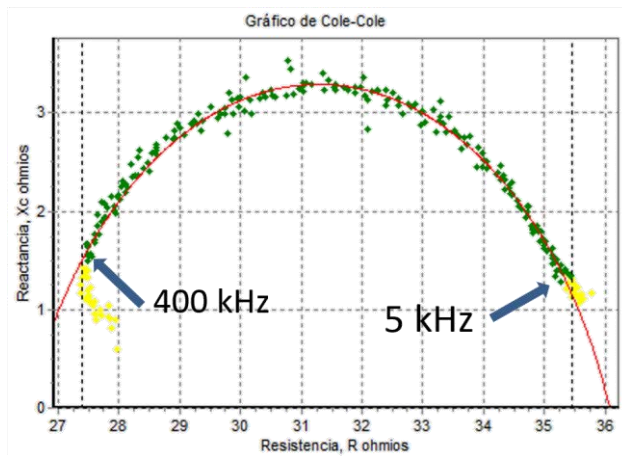


Figura 4. Resultado representativo de una medida utilizando el equipo comercial SFB7 de Impedimed con la disposición de electrodos propuesta

Estos resultados son los que han motivado que en el prototipo IVOL se utilicen frecuencias entre los 5 kHz y los 200 kHz. Se ha comprobado que los resultados con el sistema IVOL, dentro de este margen de frecuencias y para los mismos electrodos, son comparables con el SFB7.

Un aspecto importante es saber cuáles pueden ser las variaciones durante el día en una persona debido a los cambios posturales, a la ingesta de alimentos o a la actividad física. Asimismo, hay que cuantificar los posibles cambios debidos a la recolocación de los electrodos en días distintos. Para dar respuesta a estas preguntas se han realizado medidas preliminares en un voluntario sano durante varios días. Los resultados en módulo y fase a 50 kHz están representados en la figura 5. Como puede observarse, la variación en módulo es inferior a 4 Ohmios y en fase a 2 grados.

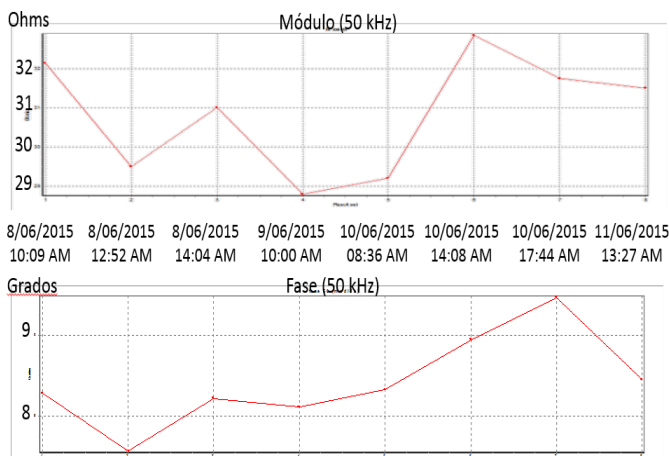


Figura 5. Resultados para una persona sana en distintos momentos del día y en distintos días.

En los pacientes, obtuvimos una reducción importante tanto en la parte real como en la imaginaria, siendo el peor

de los casos una parte real de $9,7 \Omega$ con y parte imaginaria de -1.7Ω (a 50 kHz). Hay que resaltar que estos cambios son mucho mayores a los obtenidos en las pruebas de repetitividad de la figura 5.

En la figura 6 pueden verse los resultados a todas las frecuencias medidas con el sistema IVOL en 1 voluntario y en 9 pacientes. Se puede observar que para los pacientes el ajuste a un arco de Cole es mucho peor, tanto más como más baja es la magnitud medida.

Este comportamiento está en concordancia con lo esperado ya que a una mayor hidratación la impedancia tiene que disminuir. Asimismo, los arcos (del ajuste al modelo de Cole) tienen que hacerse más pequeños ya que el porcentaje de agua respecto al de las membranas celulares disminuye, en el límite, con sólo agua, el arco colapsaría a un solo punto en este margen de frecuencias (no en otros a más alta frecuencia donde tiene su relajación).

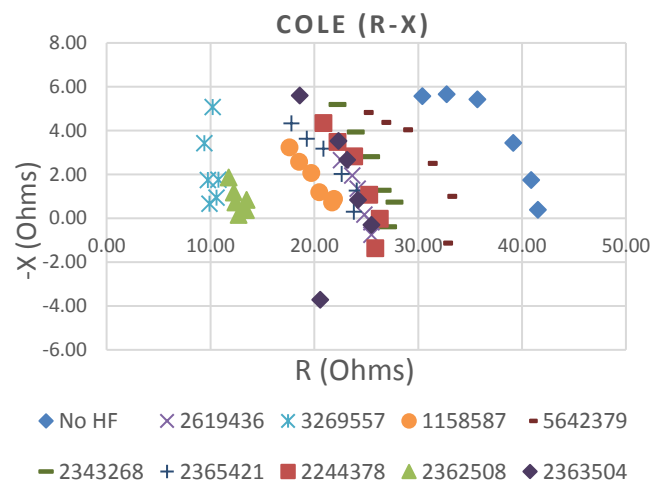


Figura 6. Resultados preliminares con el sistema IVOL en un voluntario (No HF) y en 9 pacientes con IC

4. Conclusiones

Se ha construido un sistema inalámbrico a baterías para medir el espectro de bioimpedancia localizada en el tobillo entre 5 kHz y 200 kHz. La comparación con un equipo comercial demuestra que los errores dependen principalmente de los electrodos y son similares para ambos equipos. Como es de esperar, las mediciones en pacientes tienen valores de impedancia mucho menores que en los voluntarios debido a los distintos grados de edema que presentan. El ajuste de los datos a un modelo de Cole es una primera representación valiosa ya que si el arco es grande indica un tejido sano con un porcentaje de agua bajo y al reducirse indica el aumento del agua intersticial (a baja frecuencia) y también del agua total (a alta frecuencia). Actualmente se está realizando una campaña de medida para poder correlacionar los resultados obtenidos con otros métodos clínicos para definir los mejores estimadores para una detección temprana de la descompensación en la insuficiencia cardíaca.

Agradecimientos

Agradecemos el soporte de las siguientes entidades: Fundació “La Marató” de TV3 [20150830], Ministerio de Economía y Competitividad, Instituto de Salud Carlos III [FIS-PI13/00765, DTS-15/00099 and RIC-RD12/0042/0002]m Generalitat de Catalunya [SGR L-00436] y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER).

Referencias

- [1] Mosterd A, Hoes AW. Clinical epidemiology of heart failure. *Heart*. 2007;93:1137-46. Medline
- [2] Anguita Sánchez M, Crespo Leiro MG, DeTeresa Galván E. Prevalencia de la insuficiencia cardíaca en la población general española mayor de 45 años, Estudio PRICE. *Rev Esp Cardiol*. 2008;61:1041-9.
- [3] ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012. *European Heart Journal* (2012) 33, 1787-1847.
- [4] Guías de la Sociedad Europea de Cardiología para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca”. *Rev Esp Cardiol*. 2012;65(10):938.e1-e59.
- [5] Akshay S. Desai, Home Monitoring Heart Failure Care Does Not Improve Patient Outcomes: Looking Beyond Telephone-Based Disease Management, *Circulation*. 2012; 125: 828-836
- [6] Kataoka H., A new monitoring method for the estimation of body fluid status by digital weight scale incorporating bioelectrical impedance analyser in definite heart failure patients. *J Card Fail*. 2009;15:410-418.
- [7] Parrinello G. et al., The usefulness of bioelectrical impedance analysis in differentiating dyspnoea due to congestive heart failure. *J Card Fail*. 2008; 14:676-686
- [8] Packer M, et al., Utility of impedance cardiography for the identification of short term risk of clinical decompensation in stable patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*, 2006;47:2245-2252
- [9] Roberto Valle et al, Optimizing fluid management in patients with acute decompensated heart failure (ADHF): the emerging role of combined measurement of body hydration status and brain natriuretic peptide (BNP) levels, *Heart Fail Rev*, 16:519-529, 2011
- [10] Cuba-Gyllensten I. et al., A novel wearable vest for tracking pulmonary congestion in acutely decompensated heart failure. *International Journal of Cardiology*. 177, 2014, 199-201
- [11] Inder S. Anand et al, Monitoring Changes in Fluid Status With a Wireless Multisensor Monitor: Results From the Fluid Removal During Adherent Renal Monitoring (FARM) Study. *Congest Heart Fail*, Vol 18, No 1, 2012
- [12] Max J et al, Noninvasive Wireless Bioimpedance Monitoring Tracks Patients with Healthcare Utilization Following Discharge from Acute Decompensated Heart Failure: Results from the ACUTE Pilot Study, *Journal of Cardiac Failure*, Vol 19, No 8S, 2013

Desarrollo de un estimulador electromecánico programable para el entrenamiento electromecánico de cultivos monocapas de células miocárdicas

O.A. Pla-Terrada¹, R. Albert¹, M. Rodrigo¹, A.M. Climent², M. S. Guillem¹

¹ Instituto ITACA, Universitat Politècnica de València, Valencia, España

² Servicio de Cardiología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

Resumen

Diversos estudios médicos han concluido que es posible regenerar tejido cardíaco a partir de células madre. A pesar de ello, la tasa de supervivencia de las células madre implantadas en corazones resulta inferior al 10%. Un preacondicionamiento electromecánico de las células a implantar puede ser efectivo a la hora de aumentar el efecto paracrino, puesto que las células estarían ya adaptadas a un entorno con estiramiento cíclico y, adicionalmente el entrenamiento promoverá la diferenciación hacia tejido cardíaco adulto. Para ello, se ha diseñado e implementado un estimulador electromecánico programable para entrenar cultivos de células miocárdicas.

1. Introducción

Las enfermedades cardiovasculares son una de las principales causas de mortalidad en el mundo. La insuficiencia cardíaca provocada por dichas enfermedades supone uno de los retos más importantes para la medicina regenerativa debido a su alta incidencia.

La ingeniería tisular tiene como objetivo producir sustitutos viables que restauren, mantengan o mejoren las funciones del tejido y órganos humanos. A diferencia de las terapias estándar, los productos de la ingeniería tisular utilizan células vivas que se integran en el paciente [1]. Así pues, las células madre son células capaces de replicarse y dar lugar a diversos tipos celulares. Algunas de las células "hijas" se especializan mediante diferenciación, y otras mantendrán su capacidad replicativa y serán por tanto nuevas células madre. La existencia de este tipo de células permite mantener la capacidad regenerativa de los tejidos [2].

En los últimos años se han desarrollado numerosas estrategias y ensayos clínicos de terapia celular que han perseguido regenerar el tejido dañado mediante la administración de células con potencial cardiorregenerativo. En concreto, se han implantado células madre adultas procedentes de la medula ósea y tejido adiposo entre otros [3]. El principal efecto cardiorregenerativo de la inyección de células madre adultas es fundamentalmente paracrino, es decir, debido a la liberación de citoquinas y otros factores que potencian la vascularización del tejido [4]. Los resultados han demostrado que la implantación de células madre adultas es una técnica segura y mejora la función cardíaca, sin embargo, los índices de retención celular y supervivencia han sido inferiores al 10% [5].

Un preacondicionamiento electromecánico de las células a implantar podría ser efectivo a la hora de aumentar el efecto paracrino, puesto que las células estarían ya adaptadas a un entorno con estiramiento cíclico y, adicionalmente, el entrenamiento podría promover la diferenciación hacia tejido cardíaco adulto. Diversos autores han estudiado el efecto beneficioso de un entrenamiento eléctrico o mecánico en cultivos de células procedentes de corazones neonatos durante su maduración. Eschenhagen y Zimmerman demostraron la eficiencia de un entrenamiento mecánico durante el cultivo de células cardíacas neonatales [6]. Bajo estas condiciones, las células formaron músculo cardíaco altamente diferenciado que exhibía propiedades contráctiles y electrofisiológicas más similares al miocardio adulto que aquellos tejidos que no habían sido entrenados. En nuestro grupo de investigación hemos demostrado que el cultivo de una línea cardíaca de células auriculares murinas aumentó sus niveles de maduración tras una estimulación mecánica [7].

Estos estudios han puesto de relieve la importancia del entrenamiento en el proceso de maduración del tejido miocárdico. Es por ello que la principal finalidad del presente proyecto es la adaptación y aplicación de la tecnología necesaria para la construcción, entrenamiento y caracterización de parches de tejido cardíaco bioartificial.



Figura 1. Diagrama general del estimulador electromecánico.

2. Materiales y métodos

En el presente trabajo se ha desarrollado un estimulador electromecánico coordinado para el desarrollo de cultivos de células miocárdicas. Este sistema se basa en tres partes que actúan simultáneamente: el estimulador eléctrico, el estimulador mecánico y una interfaz de usuario mediante pantalla táctil para poder configurar los parámetros de forma fácil e intuitiva (Figura 1).

El estimulador eléctrico está coordinado con el mecánico para así simular los latidos de un corazón, en el que la activación eléctrica precede a la mecánica. Todo el sistema cuenta con dos interfaces de comunicación: una interfaz mediante una pantalla táctil donde podremos cambiar los valores de los parámetros del estímulo eléctrico y una red ZigBee donde podremos comunicar el ordenador con el estimulador de forma inalámbrica.

2.1. Estimulador mecánico

El estimulador mecánico cuenta con un microcontrolador (Arduino UNO) que se encarga de gestionar las señales que envía al driver del motor (EasyDriver). Este driver acciona el motor paso a paso (SM-42BYG011-25) que crea un estímulo longitudinal en el pocillo de goma donde residen las células. Además, el estimulador mecánico cuenta con un sensor hall (A3144) y su respectivo imán que implementan la función de final de carrera.

Para la realización del diseño de la parte mecánica de nuestro sistema se utilizó el programa FreeCad para más tarde imprimir las piezas en una impresora 3D (MakerBot® Replicator® 2). La primera pieza hace la función de base y soporta uno de los lados del pocillo de goma. Estos pocillos tienen dos agujeros en cada lado para poder fijarlos a la superficie que deseemos. En nuestro caso, se dibujaron dos agujeros con la forma de una tuerca para así poder atornillar los pocillos a la pieza. Además, esta pieza sirve de sujeción del motor paso a paso (Figura 2).

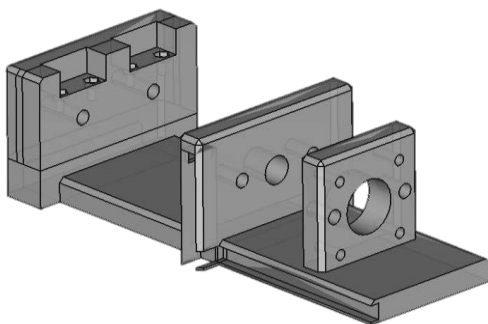


Figura 2. Pieza base del estimulador mecánico.

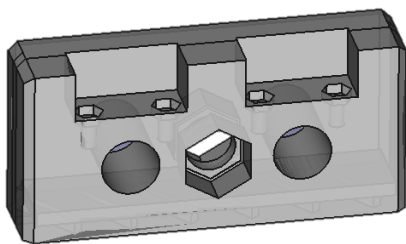


Figura 3. Pieza móvil del estimulador mecánico.

La pieza móvil (Figura 3) soporta el otro extremo del pocillo de goma. Esta pieza que está enfrentada a la pieza base, se mueve hacia delante y hacia atrás provocando un estímulo mecánico gracias a una varilla roscada enganchada al eje del motor paso a paso. En el centro de la pieza, se sitúa una tuerca de diámetro 8 mm para producir el movimiento y en los laterales dos rodamientos con sus respectivas varillas que sirven de sujeción y deslizamiento de la misma. Para ello se han realizado los agujeros correspondientes para el encaje de estas piezas. Finalmente se realizó el montaje y encaje de todas las piezas (Figura 4).

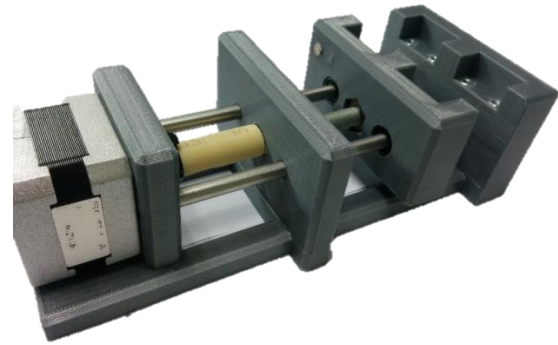


Figura 4. Montaje del estimulador mecánico.

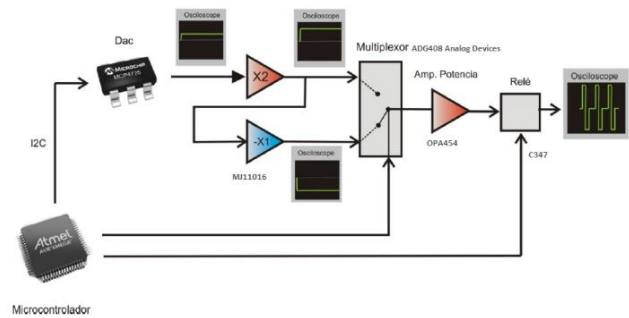


Figura 5. Esquema eléctrico generación señal bifásica.

2.2. Estimulador eléctrico

En la Figura 5 podemos observar los distintos componentes del estimulador eléctrico. Mediante la comunicación inalámbrica o la pantalla táctil se envían los órdenes para que el estimulador empiece a funcionar. Una vez interpretadas las órdenes por el microcontrolador (Arduino MEGA 2560) se establece una señal de referencia gracias a los convertidores digitales-analógicos (DACs), que convierten la instrucción digital generada por el microcontrolador en una señal analógica. A continuación, la tensión es amplificada en la siguiente etapa para generar una señal bipolar. Para ello, se requiere de una etapa de amplificación con un amplificador no inversor de ganancia 2 y otro inversor de ganancia -1 en cascada, implementados con dos amplificadores operacionales, logrando así una señal positiva y negativa entre -10 y +10 V. Una vez generada la forma de onda deseada, ésta es amplificada tanto en tensión como en corriente para alcanzar los valores requeridos para la experimentación.

Para que los electrodos y todo el sistema estén aislados del tejido a estimular, se ha implementó un relé entre la

salida de la etapa de amplificación de potencia y los conectores de los electrodos, lo que permite aislar eléctricamente el tejido del sistema cuando no se está estimulando. Para el montaje del estimulador se utilizaron cuatro PCBs, una por cada canal. En nuestro caso, se utilizaron cuatro canales para poder conectar varios electrodos y así utilizar los necesarios para los diferentes experimentos. Estas PCBs albergan todos los circuitos descritos anteriormente. Por último, todos estos componentes se instalaron junto con las fuentes de alimentación, los microcontroladores y el driver del motor en una caja de plástico ABS diseñada para instrumentación de laboratorio (Figura 6).

2.3. Interfaz de usuario

Para poder configurar los parámetros fácilmente se decidió incorporar al sistema una interfaz de usuario mediante pantalla táctil utilizando la pantalla Arduino TFT Touch Shield V2.0. Esta pantalla está conectada a un Arduino UNO, en el cual se configuran cada uno de los pines para el buen funcionamiento de la pantalla.

La interfaz de usuario se ha programado de manera que sea sencillo para el usuario final. Para ello se han implementado una serie de menús que van apareciendo de

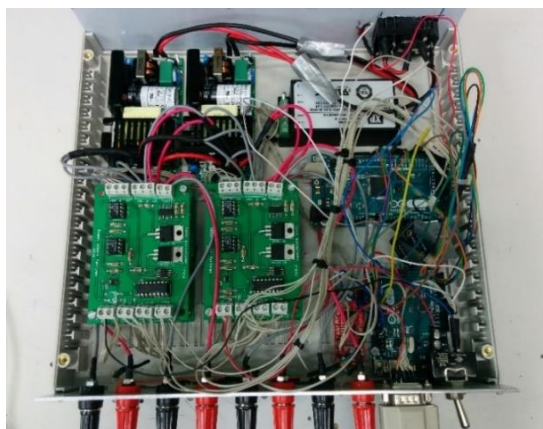


Figura 6. Montaje del estimulador electromecánico de 4 canales.

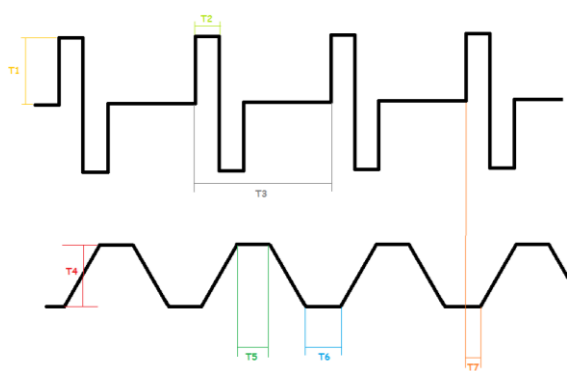


Figura 7. Formas de onda de la estimulación eléctrica y mecánica y parámetros configurables: T1: Voltaje de pico, T2: Ancho de pulso, T3: Periodo, T4: % de estiramiento, T5: Tiempo de espera con el pocillo estirado, T6: Tiempo de reposo entre estímulos, T7: Tiempo entre la las estimulaciones eléctrica y mecánica.

forma secuencial y que nos permiten elegir el canal por el que deseamos estimular, los parámetros que deseamos modificar y el valor que le queremos asignar a cada uno de estos parámetros, ilustrados en la Figura 7: voltaje de pico, periodo de estimulación, ancho de pulso eléctrico, porcentaje de estiramiento mecánico del pocillo flexible y tiempos con pocillo estirado, en reposo y entre estimulación eléctrica y mecánica. Por último, se diseñó una caja impresa en 3D para incorporar la pantalla al sistema. En la Figura 8 podemos observar el diseño final del conjunto del estimulador electromecánico para el cultivo de células miocárdicas preparado para su traslado a un laboratorio de electrofisiología.

3. Resultados

En esta sección se detalla la caracterización realizada sobre el estimulador desarrollado para comprobar el cumplimiento de las condiciones de diseño estipuladas.

Se ha comprobado el número de pasos que da el motor para los diferentes porcentajes de estiramiento. Se obtuvo una gráfica lineal debido a que el porcentaje de estiramiento es directamente proporcional al número de pasos del motor (Figura 9). El número de pasos de motor se pudo calcular sabiendo que cada vez que el motor da una vuelta, la pieza se mueve 1,25 mm, es decir, el paso de la rosca.

Por último, se ha realizado un estudio de los límites de funcionamiento del motor a la hora de realizar un estímulo. El motor seleccionado NEMA 17 cuenta con un



Figura 8. Sistema completo de estimulación electromecánica.

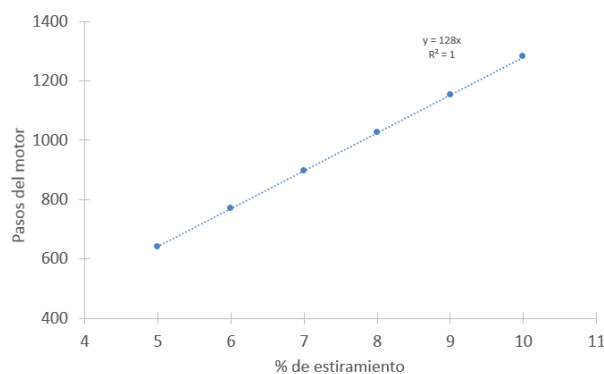


Figura 9. Número de pasos del motor en función del porcentaje de estiramiento del pocillo.

par motor de 3.2 Kg/cm, una inercia total de 3.5 Kg·m² y una corriente máxima de 1.2 A por bobinado.

Para una determinada frecuencia de estimulación se comprobó el rango de porcentajes de estiramiento posibles para los cuales la pieza móvil llega al final de su recorrido antes de empezar la siguiente estimulación. La frecuencia cardíaca en un ser humano adulto suele estar entre 60-100 pulsaciones por minuto que equivale a una pulsación entre 1000 ms y 600ms. En nuestro estudio se han considerado cuatro periodos diferentes en un rango desde los 700ms hasta los 1000ms. Se ha podido comprobar que hasta un 7% de estiramiento el motor cumple todos los periodos propuestos. A partir de 8% el motor ya no tiene suficiente velocidad para coordinar los dos estímulos (ver Tabla 1).

	5%	6%	7%	8%	9%	10%
700ms						
800ms						
900ms						
1000ms						

Tabla 1. Tabla gráfica de los límites de funcionamiento del motor según las condiciones de porcentaje de estiramiento y periodo. En verde, las condiciones en las que el motor funciona favorablemente y en rojo, las que funciona desfavorablemente.

4. Discusión

En el presente trabajo se ha logrado el diseño e implementación de un estimulador electromecánico coordinado para entrenar cultivos de células miocárdicas. El sistema es capaz de provocar un estímulo mecánico mediante estiramiento longitudinal y coordinarlo con el pulso bifásico eléctrico. Para poder llevar a cabo el control del sistema, se programó una interfaz de usuario controlado mediante una pantalla táctil, aunque también se puede controlar el sistema mediante una red inalámbrica Zigbee. Una de las ventajas de este sistema es que es completamente programable y, por tanto, podemos ajustar todos los parámetros de la estimulación, cosa que no podríamos hacer en otros sistemas comerciales.

Se han pensado diversas mejoras y actualizaciones que podrían implantarse en una versión futura de nuestro estimulador:

- El diseño de un estimulador más grande con un mínimo de cuatro pocillos elásticos para poder estimular más cultivos simultáneamente.
- Monitorizar en todo momento la posición de la pieza móvil del estimulador mecánico para poder moverla electrónicamente a la posición que deseamos desde la interfaz de usuario.
- Programar protocolos de estimulación para poder cambiar los parámetros del estímulo durante el tiempo del experimento.

5. Conclusión

Se ha diseñado y construido un sistema de estimulación electromecánica coordinado para el desarrollo de parches de tejido artificial. El uso de este equipo permitirá un mejor entendimiento del comportamiento electrofisiológico del tejido en diferentes condiciones de estiramiento y estimulación cardíaca.

Agradecimientos

Este proyecto ha sido parcialmente financiado por el Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Economía y Competitividad (PI13-01882, PI13-00903) y por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Red RIC, PLE2009-0152).

Referencias

- [1] Vunjak-Novakovic G, Tandon N, Godier A, Maidhof R, Marsano A, Martens TP, Radisic M. Challenges in Cardiac Tissue Engineering. *European Journal of Heart Failure*, vol 10, 2010, pp 169-87.
- [2] Gomillion CT, Burg KJL. Stem cells and adipose tissue engineering. *Biomaterials*, vol 27, 2006, pp 6052-63.
- [3] Bayes-Genis A, Soler-Botija C, Farré J, Sepúlveda P, Raya A, Roura S, Prat-Vidal C, Gálvez-Montón C, Montero JA, Büscher D, Izpisua Belmonte JC. Human progenitor cells derived from cardiac adipose tissue ameliorate myocardial infarction in rodents. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, vol 49, 2010, pp 771-80.
- [4] Perez-Illzarbe M, Agbulut O, Pelacho B, Ciorba C, San Jose-Eneriz E, Desnos M, Hagege AA, Aranda P, Andreu EJ, Menasché P, Prósper F. Characterization of the paracrine effects of human skeletal myoblasts transplanted in infarcted myocardium. *European Journal of Heart Failure*, vol 10, sup 11, 2008, pp 1065-1072.
- [5] Hou D, Youssef EA, Brinton TJ, Zhang P, Rogers P, Price ET, Yeung AC, Johnstone BH, Yock PG, March KL. Radiolabeled cell distribution after intramyocardial, intracoronary, and interstitial retrograde coronary venous delivery: implications for current clinical trials. *Circulation*, vol 112, 2005, pp I150-I156.
- [6] Eschenhagen T, Fink C, Remmers U, Scholz H, Wattlechow J, Weil J, Zimmermann W, Dohmen HH, Schäfer H, Bishopric N, Wakatsuki T, Elson EL. Three-dimensional reconstitution of embryonic cardiomyocytes in a collagen matrix: a new heart muscle model system. *FASEB Journal*, vol 11, sup 8, 1997, pp 683-94.
- [7] Izquierdo-Albero R, Gómez-Cid L, Albert-Martínez R, Fuentes L, Hernández-Romero I, Guillem MS, Fernández-Santos ME, Atienza F, Fernández-Avilés F, Climent AM. Effect of in vitro mechanical stimulation on cardiac gene expression. *Actas del XXXIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*, Madrid, 2015, pp 293-6.

Prototipo de pulsera para la medida de ECG bajo demanda y la medida continua de la onda de pulso

V. Ferrer-Mileo, A. Barea-Cañizares, M. Mateu-Mateus, F. Guede-Fernández, M. Fernández-Chimeno, J. Ramos-Castro y M.A. García-González

¹ Grupo de Instrumentación Electrónica y Biomédica, Departament d'Enginyeria Electrònica, Universitat Politècnica de Catalunya (UPC), Barcelona, España e-mail: victor.ferrer.mileo@upc.edu

Resumen

El interés en la variabilidad de ritmo cardiaco (HRV) y la estimación de la presión arterial a partir del tiempo de llegada de la onda de pulso (PAT) se ha incrementado exponencialmente en los últimos años debido a los indicadores que se pueden extraer. En este trabajo se presenta un prototipo de pulsera que, sin ningún otro medio externo a esta, es capaz de medir electrocardiograma (ECG), onda de pulso y, por consiguiente el PAT, de forma no invasiva. Además, está diseñada para la realización de medidas oportunistas y pensando en la comodidad del usuario. Se presentan también los materiales y electrónica empleados para la implementación del prototipo. A partir de los resultados obtenidos se da una guía para la colocación de los sensores en la pulsera. Finalmente, los resultados indican que la calidad de las medidas realizadas es suficiente para ser utilizadas en el estudio de HRV y PAT.

1. Introducción

En los últimos años, el interés en el estudio de HRV se ha incrementado exponencialmente debido a las amplias posibilidades que ofrece. Al estar influido por multitud de sistemas, entre los cuales se encuentran el simpático y el parasimpático, su análisis nos permite extraer indicadores relacionados con el estado de salud y forma física [1, 2]. Sin embargo, el estudio ambulatorio del HRV se ha realizado típicamente mediante dispositivos Holters incómodos para los pacientes debido al uso de electrodos de gel y cables.

Por otro lado, la hipertensión es uno de los factores de riesgo más importante en las enfermedades cardiovasculares. Por ello, ha aumentado el interés en la estimación de la presión arterial (PA) a partir del PAT [3]. Además, como el PAT puede ser medido de forma no invasiva, en la literatura podemos encontrar diversos sistemas de monitorización ambulatoria de la PA mediante el PAT [4], [5]. Sin embargo, en el desarrollo de estos sistemas se ha priorizado la monitorización clínica por encima de la comodidad del paciente. Por eso, estos dispositivos están más enfocados al uso médico y medidas puntuales separadas por semanas o meses que para un público general o medidas frecuentes a lo largo del tiempo.

Por otra parte, en el mercado de consumo se ha incrementado el interés en el autocontrol. Diversos fabricantes han presentado dispositivos, principalmente pulseras y relojes, que cuantifican variables fisiológicas de los usuarios de una forma cómoda. Las pulseras de cuantificación Fitbit y parecidas, así como *smartwatches*

de Samsung, Motorola, Apple, etc, son ejemplos de este interés. Sin embargo, todos ellos adolecen de unas limitaciones comunes: su falta de precisión para el uso médico y la falta de acceso a las señales fisiológicas medidas a partir de las cuales se obtienen los indicadores de salud y bienestar. Estos dispositivos tampoco permiten realizar una medida de PAT.

Por tanto, el objetivo de este artículo es demostrar la viabilidad de una pulsera para medir HRV y PAT de forma cómoda para el usuario. Para ello, se ha diseñado una pulsera que mide el pulso de forma oportunista. Además, permite la realización de medidas cortas de PAT bajo demanda de forma cómoda. En este artículo se presenta un prototipo de pulsera capaz de medir la primera derivación de ECG y el pulso en dos puntos distintos mediante fotoplethismografía (PPG).

2. Diseño y métodos

2.1. Señales adquiridas por el dispositivo

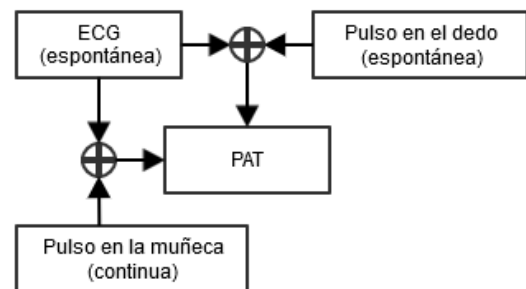


Figura 1. Señales adquiridas por el sistema

El sistema diseñado permite la adquisición simultánea, no invasiva y oportunista de dos señales fisiológicas en tres puntos de medida (ECG, pulso en el dedo y pulso en la muñeca) y permite la estimación del PAT a partir de ellas.

Durante el uso normal, el pulso en la cara interna de muñeca es adquirido de forma continua por un sensor óptico situado en la correa de la pulsera. Para obtener una señal de calidad, es imprescindible una buena colocación de la pulsera. El mal alineamiento entre el sensor y las arterias o el movimiento provocan la adquisición de una señal de pulso débil y ruidosa. Dado que una adquisición continua de esta señal no proporcionaría información provechosa, en un futuro se pretende diseñar un algoritmo que detecte cuando existe una buena relación señal a ruido

y realizar entonces la medida de pulso para derivar el ritmo cardíaco.

La medida de ECG y PAT se realizan bajo demanda del usuario. Para su realización, el usuario debe apoyar los dedos índice y corazón sobre la pulsera, cerrando así el circuito de ECG y obteniendo una señal de pulso de alta calidad para la estimación del PAT. Cuando se apoya los dedos anteriormente indicados, el circuito de ECG se cierra porque el electrodo situado en la parte superior de la pulsera está en contacto con una de las manos y el otro electrodo, situado en la correa de la pulsera y en contacto permanente con la piel, está en contacto con la otra. Por tanto, el dispositivo mide la primera derivación de ECG.

2.2. Diseño de la pulsera



Figura 2. Pulsera diseñada

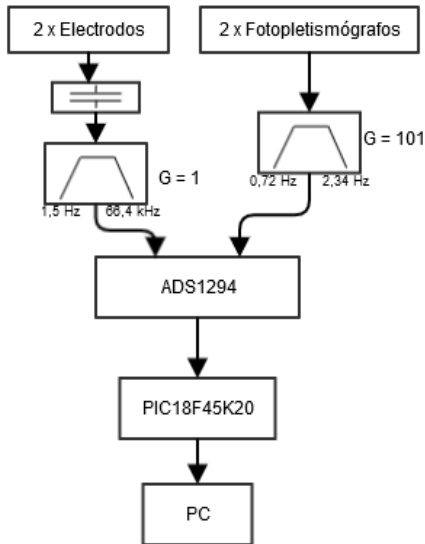


Figura 3. Diagrama del sistema

Como se puede apreciar en la figura 2, la pulsera está formada por dos electrodos secos (2 placas de acero inoxidable) y dos sensores ópticos de reflexión. Como el dispositivo está enfocado a la realización de medidas de HRV y PAT bajo demanda, se ha optado por descartar el

electrodo de referencia y diseñar la circuitería para que en la señal de ECG se realce especialmente el complejo QRS.

Para la medida de fotopleletismografía, se ha empleado el sensor comercial TCRT1000. Este sensor óptico de reflexión incorpora, en un mismo encapsulado, un led infrarrojo, de longitud de onda de 950nm, y un fototransistor que tienen características de emisión y recepción pareadas. La figura 4 presenta el acondicionamiento del sensor.

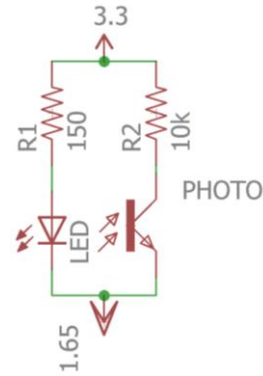


Figura 4. Acondicionamiento del sensor óptico de reflexión TCRT1000

En la parte superior de la figura 3 se observa el módulo de acondicionamiento del sistema. Este es el responsable de filtrar, amplificar y digitalizar las señales adquiridas. Está formado por en total 4 filtros analógicos, uno por cada una de las señales adquiridas (2 electrodos + 2 fotopleletismógrafos), y el chip comercial de Texas Instruments ADS1294. Este chip está enfocado para ser utilizado en circuitos de ECG, EMG y EEG y encapsula un amplificador de bajo ruido, un ADC de alta precisión y comunicación SPI. En la configuración utilizada, el ADS1294 muestrea todas las señales a 1 kHz. En este módulo, cada señal PPG es filtrada por un filtro paso banda activo de orden 1, ganancia 101 y frecuencias de corte de 0,72 y 2,34 Hz. En paralelo, la señal obtenida por cada electrodo es filtrada por un filtro paso alto ($F_c = 1,5$ Hz), un filtro antialiasing ($F_c = 66,4$ kHz). Finalmente, las señales filtradas son amplificadas y digitalizadas por el ADS1294.

El bloque de microcontrolador es el encargado de gestionar el ADS1294 y, al ser un prototipo de pulsera, transmitir las señales al ordenador por RS-232. Sin embargo, en iteraciones posteriores se reemplazará este enlace de comunicación por un protocolo inalámbrico de bajo consumo, como puede ser el Bluetooth Low Energy, y se enviarán los datos al teléfono del usuario. El microcontrolador empleado ha sido el PIC de ultra bajo consumo 18F45K20

2.3. Evaluación del sistema



Figura 5a. Medida de ECG y pulso en la cara externa de la muñeca



Figura 5b. Medida de ECG y pulso en la cara interior de la muñeca

El sistema ha sido validado con 15 voluntarios de ambos sexos y de edades comprendidas entre los 20 y 65 años y en una habitación a una temperatura de 24°C. Por seguridad, durante la adquisición de los datos se ha empleado un portátil alimentado a baterías. Durante toda la prueba, se ha pedido a los voluntarios que permaneciesen sentados y sin contacto entre las manos para minimizar los artefactos por movimiento. La pulsera ha sido sujetada en la cara externa de la muñeca izquierda del sujeto, con el dedo índice de la mano derecha del voluntario en contacto con el electrodo y el dedo corazón encima del fotopleletismógrafo. En la figura 5a se puede observar esta posición. Antes de realizar la medida se ha esperado 2 minutos para que el efecto de transpiración de la piel mejorase el contacto electrodo-piel. Transcurrido este intervalo, se realiza una medida de un minuto. A continuación la pulsera es desplazada a la cara interna de la muñeca como se puede observar en la figura 5b, se espera un minuto y finalmente se mide durante un minuto más. Estas dos medidas permiten evaluar para cada sujeto si para la medida continua de pulso es mejor poner el sensor en la cara externa (lado del dorso de la mano) o interna (lado de la palma de la mano) de la muñeca y la posición del electrodo interno para la medida de ECG.

En el posterior procesamiento de las señales adquiridas, se ha empleado el detector de Pan-Tompkins [6] para extraer la serie RR de la señal de ECG. En la detección del pulso, se ha utilizado el punto fiducial de máxima derivada. Previamente a esta detección, las señales fotopleletismográficas han sido filtradas paso banda hacia

delante y hacia atrás con un filtro de Butterworth de orden 2 e interpoladas posteriormente a 5 kHz [7].

3. Resultados

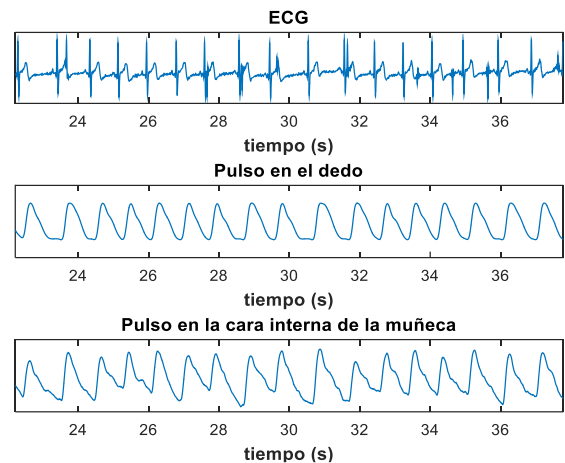


Figura 6. Superior) ECG con ruido impulsivo. En medio) Pulso en el dedo. Inferior) Pulso en la cara interna de la muñeca.

En la figura 6 observamos un ejemplo de las señales adquiridas por la pulsera cuando se mide en la postura mostrada por la figura 5a. Como se puede observar en la figura 6a, el complejo QRS se puede apreciar perfectamente en la señal de ECG obtenida a 1 kHz. También se observa un cierto ruido impulsivo inducido por el vello existente en la cara interna de la muñeca. Este degrada la calidad del contacto entre el electrodo y la piel e introduce este ruido. Cuando se realiza la medida con el electrodo en contacto con la cara externa de la muñeca, este ruido impulsivo aparece con más frecuencia debido a una mayor presencia de pelo en la zona.

En la figura 6b y 6c se observa el pulso extraído en el dedo y en la muñeca. Sin embargo, la ausencia de sujeción del dedo ha obligado al voluntario a mantenerse quieto y aplicar una fuerza constante sobre la pulsera para evitar artefactos debidos al movimiento o cambios de presión [5]. En futuras versiones del dispositivo, se puede añadir una depresión semiesférica alrededor del punto del sensor óptico para facilitar la realización de la medida con el dedo y reducir, a su vez, los artefactos de movimiento. Como ya se ha comentado anteriormente, la correcta colocación de la pulsera ha sido crucial para obtener la señal de pulso en la muñeca. Sin embargo, en el 30% y 50% de las medidas en la cara interna y externa de la muñeca respectivamente no se ha obtenido una señal satisfactoria. Ésta era o una señal de pulso demasiado débil o inexistente. Pueden paliar esta situación el uso del canal verde como fuente lumínica para aumentar la penetración de la luz en la piel, el aumento de la potencia del fotodiodo y el uso de varios fotopleletismógrafos [8]. Además, como se observa del mayor porcentaje de señal válida y en contra de la mayoría de los dispositivos comerciales, la cara interna de la muñeca parece ser la preferida para la realización de una medida de PPG. Creemos que la razón por la que los dispositivos comerciales no utilicen esta ubicación puede estar relacionada con motivos económicos y cosméticos dado que la gran mayoría de casos estos dispositivos

permiten el intercambio de sus correas de sujeción. Otro motivo puede ser la dificultad añadida que supone incluir un circuito electrónico en la sujeción para su producción en serie.

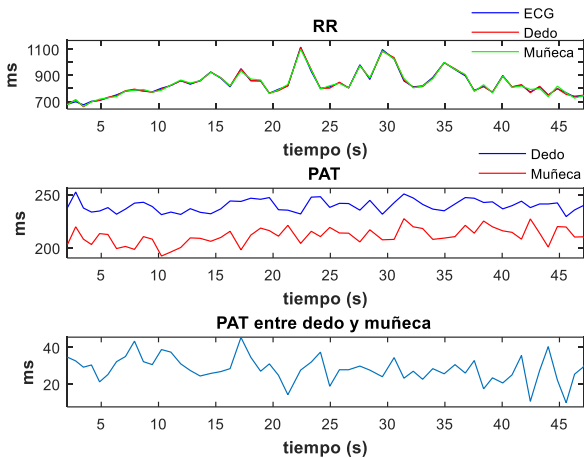


Figura 7. Superior) Serie RR extraídas. En medio) Series PAT calculadas. Inferior) Serie PAT entre las señales de pulso

La figura 7 presenta las series RR y PAT estimadas a partir de las señales de la medida parcialmente mostrada en la figura 6. En la extracción de la serie RR a partir del ECG se ha utilizado un algoritmo robusto en la detección del complejo QRS para evitar que el ruido impulsivo presente sea confundido con un pico R. En la estimación de la serie RR a partir del pulso se ha utilizado el pico de la primera derivada como instante de llegada del pulso.

La desviación estándar del error entre la serie RR de ECG y el pulso en el dedo presentadas en la figura 7 es de 6,36 ms. Análogamente, la desviación estándar del error entre la serie RR de ECG y el pulso en la muñeca es de 9,05 ms. Este resultado sugiere que la detección del pulso es más precisa en dedo que en la muñeca.

En la figura 7 también podemos observar la serie PAT calculada a partir del pulso en el dedo y en la muñeca. Como se puede comprobar, el dispositivo desarrollado adquiere las señales con suficiente precisión para poder realizar el estudio del PAT. Además, al adquirirse simultáneamente el pulso en dos lugares distintos, se puede calcular el PAT entre estos dos puntos como se observa en gráfico inferior de la figura 7.

Añadir que, como el sistema es un primer prototipo, aún no se has validado estas medidas de HRV y PAT realizadas con un sistema de referencia.

4. Conclusiones

Se ha descrito que una pulsera para la realización de medidas oportunistas de pulso y ECG con calidad suficiente para un estudio de HRV o PAT es posible. Sin embargo, aunque el prototipo desarrollado tiene ciertas limitaciones, se han indicado varias soluciones para solventarlas. La mayor limitación relacionada con los problemas con la medida PPG en la muñeca, puede ser resuelta mediante el desarrollo de un fotopleletismógrafo personalizado o la utilización de otro modelo comercial.

También es importante destacar que el electrodo en contacto con la muñeca debe estar situado en su cara interna para minimizar el ruido impulsivo debido a la presencia de vello. En conjunto con un algoritmo robusto de detección del complejo QRS, los errores en la detección del pico R debido a este ruido impulsivo es mínimo.

En el trabajo presentado también se ha encontrado que la región óptima para la realización de medidas de PPG de forma continua es la cara interna de la muñeca. Además, la desviación estándar del error entre las series RR y pulso es, en ambos casos, menor de 10 ms. Se debe destacar que la señal de pulso en el dedo parece ser más precisa que la extraída en la muñeca.

Finalmente, las medidas de HRV y PAT no han sido comparadas con un sistema de referencia.

5. Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto Recercaixa “Desenvolupament de marcadors d'estils de vida saludable per a gent gran basats en Smartphones” y el proyecto MINECO DEP2015-68538-C2-2-R

6. Bibliografía

- [1] D. Hallman, T. Sato, J. Kristiansen, N. Gupta, J. Skotte, and A. Holtermann, “Prolonged Sitting is Associated with Attenuated Heart Rate Variability during Sleep in Blue-Collar Workers,” *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 12, no. 11, pp. 14811–14827, 2015.
- [2] T. Udo, E.-Y. Mun, J. F. Buckman, E. G. Vaschillo, B. Vaschillo, M. E. Bates, U. D. O. E. T. Al, and D. Ph, “Potential side effects of unhealthy lifestyle choices and health risks on basal and reactive heart rate variability in college drinkers.,” *J. Stud. Alcohol Drugs*, vol. 74, no. 5, pp. 787–96, 2013.
- [3] R. Mukkamala, J.-O. Hahn, O. T. Inan, L. K. Mestha, C.-S. Kim, H. Toreyin, and S. Kyal, “Toward Ubiquitous Blood Pressure Monitoring via Pulse Transit Time: Theory and Practice,” *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 62, no. 8, pp. 1879–1901, Aug. 2015.
- [4] Y. Zheng, C. C. Y. Poon, B. P. Yan, and J. Y. W. Lau, “Pulse Arrival Time Based Cuff-Less and 24-H Wearable Blood Pressure Monitoring and its Diagnostic Value in Hypertension,” *J. Med. Syst.*, vol. 40, no. 9, p. 195, 2016.
- [5] D. B. and J.-M. R. and M. R. Yuce, “A survey on signals and systems in ambulatory blood pressure monitoring using pulse transit time,” *Physiol. Meas.*, vol. 36, no. 3, p. R1, 2015.
- [6] J. Pan and W. J. Tompkins, “A real-time QRS detection algorithm.,” *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 32, no. 3, pp. 230–236, 1985.
- [7] V. Ferrer-Mileo, F. Guede-Fernandez, M. Fernandez-Chimeno, J. Ramos-Castro, and M. A. Garcia-Gonzalez, “Accuracy of heart rate variability estimation by photoplethysmography using an smartphone: Processing optimization and fiducial point selection,” *Proc. Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. EMBS*, vol. 2015–Novem, pp. 5700–5703, 2015.
- [8] T. Tamura, Y. Maeda, M. Sekine, and M. Yoshida, “Wearable Photoplethysmographic Sensors—Past and Present,” *Electronics*, vol. 3, no. 2, pp. 282–302, 2014.

PREMIO José María Ferrero Corral

Jueves 24 de Noviembre

Caracterización de la respuesta electrofisiológica uterina al fármaco misoprostol en base a registros de electrohisterografía (EHG)

C. Benalcazar Parra¹, R. Monfort-Orti², J. Mico¹, Y. Ye-Lin¹, J. Alberola-Rubio², A. Perales Marin², J. Mas-Cabo¹, J. Garcia-Casado¹, G. Prats-Boluda¹

¹ Centro de investigación e innovación en bioingeniería, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, {carbepar, yiye, jgarciac, gprats}@ci2b.upv.es, {jormibe, jamaca1}@etsid.upv.es

² Servicio de Obstetricia y Ginecología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia, Valencia, España,

Resumen

La inducción del parto es una práctica común en obstetricia. Actualmente no se dispone herramienta fiable que permita predecir con exactitud el éxito de la inducción. Conocer el estado electrofisiológico del útero es clave para predecir la respuesta a los fármacos empleados en la inducción. Por ello el objetivo de este estudio es caracterizar el efecto de los fármacos de inducción mediante los registros de EHG de las primeras 4 horas de inducción. Se computaron parámetros temporales y espectrales de las señales EHG durante contracción. Durante las primeras horas de inducción, se produce un aumento de la amplitud de señal de EHG y un desplazamiento del contenido espectral hacia altas frecuencias para el grupo de mujeres que finalmente alcanzaron periodo activo de parto, sugiriendo que el registro de EHG podría ser una herramienta de gran ayuda para la predicción del éxito de inducción del parto.

1. Introducción

La inducción del parto es una de las intervenciones más comunes en la obstetricia que asciende a un 20 % de todos los nacimientos y cuya finalidad es la culminación del parto. De manera general, la inducción del parto, se utiliza en situaciones en la que la terminación del embarazo reduce los riesgos maternos y fetales. La inducción del parto se ha definido exitosa si tras el proceso de inducción se alcanzó el periodo activo de parto dentro de 48 h, aunque otros lo definen como parto vaginal en cualquier momento después de la inducción [1]. Por otra parte, el fracaso de inducción está asociado directamente con el incremento de la tasa de cesáreas asociándose un incremento en la morbilidad materna y costes sanitarios adicionales. Extraer información que permita inferir si una mujer alcanzará parto vaginal o no a las pocas horas del inicio de inducción son aspectos claves para mejorar el bienestar materno-fetal durante el proceso de inducción, y reducir el tiempo y coste hospitalario.

Algunos estudios apuntan que el estado del cérvix, comúnmente evaluado con el índice Bishop, es de gran utilidad para predecir el éxito de inducción del parto [2, 3]. Sin embargo a pesar de ser ampliamente utilizado, el índice Bishop es subjetivo con poca reproducibilidad [4]. Otros autores sugieren la longitud cervical como variable independiente para la predicción del éxito de inducción [5] o tomando en cuenta la información en conjunto de

otras variables obstétricas [6, 7] como la paridad, Bishop, el índice de masa corporal, el peso del feto entre otras. A pesar de estos esfuerzos, no se dispone de un modelo matemático fiable capaz de predecir el éxito de inducción. Conocer el estado electrofisiológico del útero y su grado de madurez es clave para estimar la respuesta que se obtendrá a los fármacos empleados en la inducción del parto. Los registros habituales en obstetricia se basan únicamente en la monitorización de la frecuencia cardiaca fetal mediante ultrasonidos y de la dinámica uterina mediante un tocodinamómetro (TOCO). Con los registros de TOCO sólo se obtiene una medida de frecuencia y duración de las contracciones. Sin embargo este método no provee información estrictamente fiable, pues depende en gran medida de la interpretación del examinador [8]. Una alternativa a esta técnica es la electrohisterografía, pues ha demostrado ser uno de los marcadores biofísicos prometedores no sólo de la dinámica uterina sino también del estado electrofisiológico del útero [8].

En la actualidad existen numerosos estudios sobre la aplicabilidad de esta técnica para el estudio de las características electrofisiológicas del parto a término, pre término y en la monitorización uterina durante el embarazo [8, 9]. Sin embargo se han realizado pocos estudios que analizan la respuesta electrofisiológica del útero a fármacos a partir de los registros de EHG. El objetivo de este estudio es caracterizar el estado electrofisiológico del útero y su evolución en respuesta a los fármacos de inducción, y poder discriminar aquellos parámetros que se asocian al éxito de inducción del parto.

2. Materiales y Métodos

2.1. Adquisición de señal

El presente estudio se realiza sobre 9 mujeres de embarazo único con una edad gestacional de 41 semanas a las que se les determinó someterse a la inducción del parto en el Hospital Universitario y Politécnico de La Fe de Valencia. El estudio se adhiere a la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el comité de ética del hospital. Todas las voluntarias fueron informadas de la naturaleza del estudio, del protocolo de registro y firmaron el formulario de consentimiento informado. La inducción se llevó a cabo en todos los casos mediante inserción vaginal de 25 µg de Misoprostol (Misofar,

BIAL, Coronado, Portugal) cada 4 horas hasta un máximo de 3 administraciones. La inducción se consideró exitosa cuando la mujer alcanzó el periodo activo de parto (PAP) después del proceso de inducción. Para ello se preparó la piel cuidadosamente mediante crema exfoliante para reducir la impedancia de la interfaz electrodo-piel. Posteriormente se colocan 4 electrodos de Ag/AgCl: 2 en la superficie abdominal correspondientes a registros monopolares (M1, M2) con una distancia de separación entre ellos de 8 cm, 1 electrodo de referencia en la cadera derecha y 1 electrodo de masa en la cadera izquierda, tal y como se muestra en la figura 1. La señales de EHG son amplificadas y filtradas en el rango [0.1, 30]Hz mediante amplificador comercial de bioseñales Grass 15LT+Grass 15A94 y adquiridas con una frecuencia de muestreo de 1000 Hz. Simultáneamente se adquiere la señal tocográfica mediante colocación del tocodinamómetro sobre la superficie abdominal conectado a un monitor Corometrix 250cx series (GE HealthCare, General Electric Company, USA) que adquiere la señal tocográfica y envía los datos a un ordenador por puerto serie con una frecuencia de muestreo de 4 Hz. El tiempo de registro fue de 4 horas y 30 minutos (30 minutos correspondientes a registro de actividad basal y 4 horas a partir de la administración del fármaco).



Figura 1. Disposición de electrodos para la obtención de registros de EHG durante la inducción del parto

2.2. Análisis de la señal EHG

Dado que la señal EHG distribuye su energía en el rango de 0.1 – 4 Hz, se realiza un preprocesado de la misma para obtener la señal EHG. Primero se implementa un filtro paso banda digital para eliminar los componentes no deseados. A continuación se realiza un diezmado de la señal para reducir la frecuencia de muestreo a 20 Hz. Una vez realizado el preprocesado de los registros monopolares (M1 y M2), se obtiene de forma digital registro bipolar como se indica a continuación:

$$Bip = M2 - M1 \quad (1)$$

Posteriormente se identifican las contracciones uterinas (EHG-burst) presentes en el registro bipolar usando el siguiente criterio:

- Aumento significativo de la amplitud y/o frecuencia de la señal con respecto a la actividad basal.
- Duración mínima de 30 segundos
- Morfología de la señal acorde a los cambios electrofisiológicos. Señales con cambios abruptos o saturadas se consideran contracciones artefactadas.

Una vez identificados los EHG-burst se calcula para cada uno de ellos una serie de parámetros temporales y, a partir

del cálculo de la densidad espectral de potencia (PSD), parámetros espectrales que son comúnmente utilizados en literatura para la caracterización de la señal EHG [9]: duración y amplitud pico a pico, frecuencia media (FM), frecuencia dominante en el ancho de banda 0.2-1 Hz (DF1), frecuencia dominante en el ancho de banda 0.34-1 Hz (DF2), el cociente entre la energía en el rango de alta frecuencia (0.34-1 Hz) y la baja frecuencia entre 0.2-0.34 Hz (ratio H/L). Por último para evaluar y comparar la evolución de estos parámetros en mujeres inducidas que alcanzaron PAP de aquellas que no alcanzaron PAP (inducción fallida), se calcularon para cada paciente las medianas de los parámetros asociados a los EHG-burst presentes en tramos continuados de 30 minutos. Posteriormente para cada parámetro y tramo se calculó el valor medio y la desviación estándar para los diferentes pacientes de cada grupo.

3. Resultados

De un total de 9 mujeres involucradas en el estudio, 6 alcanzaron PAP (66,67%). En la tabla 1 se muestra los principales parámetros obstétricos y clínicos de las pacientes inducidas.

Variable	PAP N=6	NO PAP N=3
Edad de la madre (años)	30.5±4.04	32.2±2.0
Edad gestacional (días)	288.5±2.26	287.0±0
BMI (kg/m ²)	33.3±6.15	31.1±1.4
Gestaciones	1.33±0.52	1±0
Paridad	0.17±0.41	0±0
Índice Bishop	0.83±0.75	1.33±1.53
Tiempo desde administración al parto (horas)	20.6±10.5	26.6±9.8
Peso recién nacido (g)	3159.2±449.5	3541.67 ±271

Tabla 1. Parámetros obstétricos y clínicos de las pacientes registradas

Puede observarse que los partos inducidos que alcanzaron el PAP tuvieron un intervalo de tiempo entre la administración del fármaco y el parto inferior que aquellos que no lo hicieron (PAP: 20.6±10.5 h vs. No- PAP: 26.6±9.8 h). Además puede observarse que el grupo de éxito de inducción (PAP) parte de condiciones iniciales más desfavorables respecto del grupo que no alcanza PAP, pues se obtiene un índice Bishop de 0.83±0.75 frente a 1.33±1.53 respectivamente.

En la figura 2 se muestra el registro de EHG durante la inducción del parto obtenido en la paciente 1. Se ha observado que los EHG-burst experimentan cambios en sus características a lo largo de la sesión de registro. Al inicio los EHG-burst son de menor amplitud y aumentan a medida que avanza el tiempo desde el inicio de la inducción. Así mismo, se aprecia como los potenciales de acción parecen de mayor frecuencia (figura 2).

La figura 3 muestra la evolución temporal del valor promedio de los distintos parámetros de los EHG-bursts durante la inducción del parto para el grupo de pacientes que alcanzaron PAP y para el grupo de inducción fallida.

Para el grupo de pacientes que alcanzaron PAP, la duración de los EHG-burst tiende a disminuir mientras que su amplitud promedio experimenta una tendencia claramente ascendente a medida que avanza la inducción. No obstante, apenas ha habido aumento de amplitud en los EHG-bursts durante la primeras 4 horas en el grupo NO PAP, y no existe una tendencia evidente en dicho parámetro.

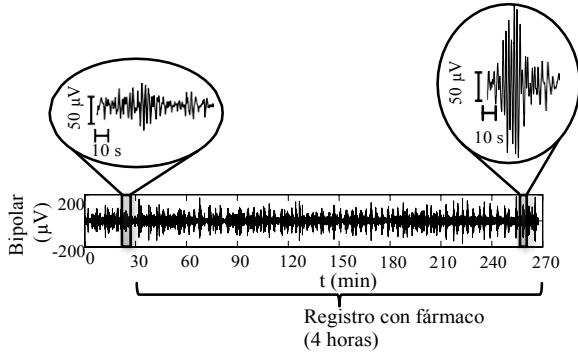


Figura 2. Registro de EHG durante la inducción del parto obtenido en la paciente 6567725.

En lo referente a parámetros espectrales, se observa que tanto los valores de la FM, DF1 y DF2 experimentan una tendencia claramente ascendente para el grupo PAP a partir del minuto 90, mientras que para el grupo NO PAP no experimenta tendencias en estos parámetros, manteniéndose prácticamente estables desde el inicio del registro. Se puede observar que en estos 3 parámetros existe un desplazamiento del contenido energético de frecuencias bajas al inicio del registro (registro basal sin fármaco) hacia frecuencias más altas en la última media hora de registro para el grupo PAP: de 0.37 ± 0.04 Hz a 0.43 ± 0.02 Hz para FM, de 0.31 ± 0.05 Hz a 0.45 ± 0.08 Hz para DF1 y de 0.4 ± 0.02 Hz a 0.47 ± 0.06 Hz para DF2. Adicionalmente se observa que los valores de los parámetros espectrales son claramente superiores respecto del grupo NO PAP a partir de las 2 horas de registro. El

desplazamiento del contenido energético hacia altas frecuencias también se manifiesta en la evolución del parámetro H/L ratio. Los EHG-burst del grupo PAP experimentan un aumento considerable del contenido de alta frecuencia con valores de H/L que van desde 1.26 ± 0.82 en basal a 2.9 ± 0.48 en la última media hora de registro. En cuanto al grupo que no alcanzó PAP, el ratio H/L no mostró la misma tendencia que el grupo PAP, es decir, sus valores prácticamente oscilan en un mismo nivel desde el inicio del registro: de 0.99 ± 0.3 en la primera media hora a 1.2 ± 0.4 en la última media hora.

4. Discusión

En este trabajo se pretende estudiar la respuesta electrofisiológica del útero al fármaco de inducción Misoprostol mediante registros de EHG durante las primeras 4 horas de inducción, y analizar si contiene información relevante para predecir el éxito de inducción. En el grupo de mujeres que alcanzó PAP, se evidencia un aumento gradual tanto en la amplitud de los EHG-bursts como en el valor de sus parámetros espectrales. Estos resultados sugieren que los agentes para la estimulación de la actividad uterina actúan favoreciendo las conexiones celulares (uniones gap), aumentando así el número total de células que se encuentran activas durante los EHG-burst [8] y de este modo facilitando la presencia de contracciones más intensas, y aumentan al mismo tiempo el ratio de excitabilidad de las células. Además se ponen en manifiesto la utilidad de los parámetros espectrales para la caracterización de la respuesta electrofisiológica de útero a los fármacos, lo cual coincide con otros autores que han utilizado la frecuencia pico (DF2) para analizar el efecto de nifedipina [10]. Por otra parte, la duración de las contracciones, aunque experimenta una tendencia a disminuir en el grupo PAP, no existe una diferencia importante entre ambos grupos. Este resultado apunta que este parámetro no es indicativo del éxito de la inducción del parto en la población de estudio.

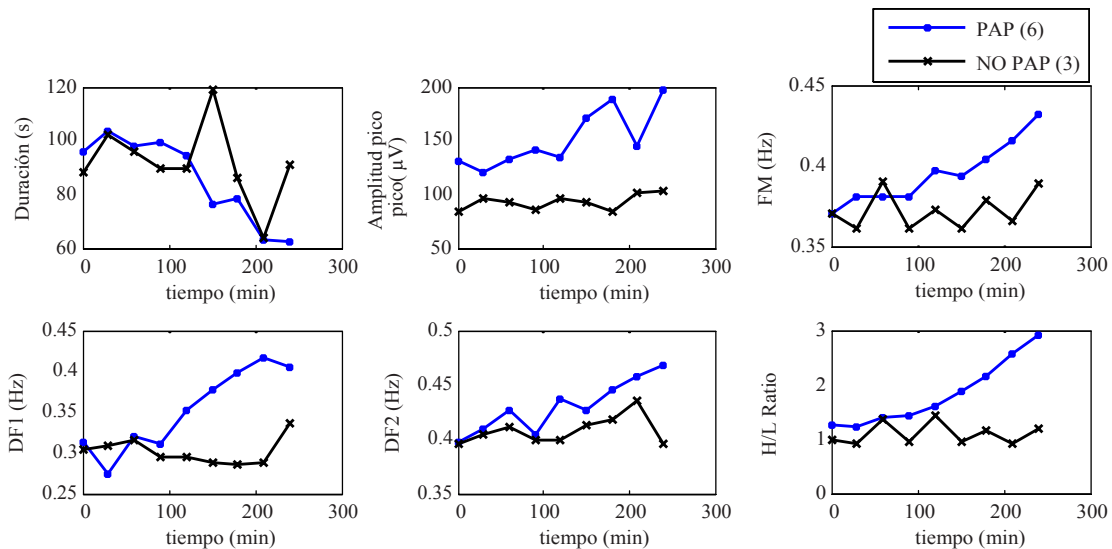


Figura 3. Evolución de los parámetros temporales y espectrales para mujeres que alcanzaron periodo activo de parto (azul, 6 pacientes) y para las que no lo alcanzaron (negro, 3 pacientes).

En comparación con la actividad basal, los cambios en las características de EHG se manifiestan a partir de los minutos 90-120 desde la administración del fármaco. Estos resultados coinciden con otros autores que han analizado el efecto de misoprostol sobre la contractilidad uterina [11, 12]. Estos estudios indican que el primer efecto del fármaco es el incremento de tono uterino. Después de 1-2 h aparecen las contracciones uterinas regulares y duran por lo menos hasta 4 h después de la administración. Arronson et al. han determinado que la actividad uterina medida en unidad Montevideo era significativamente mayor después de 2 h. A partir de las 4 h, se observa un decremento de actividad [12]. Además el tiempo que ha tardado en manifestarse los cambios en las características de EHG es coherente con los estudios de la farmacocinética [13]. En este último estudio, se han encontrado que la concentración de misoprostol en plasma aumenta gradualmente después de la administración vaginal de 400 µg, alcanzando el valor máximo entre el minuto 75 y 80 antes de disminuir lentamente con niveles detectables de drogas incluso 6 horas después. La diferencia entre el tiempo de activación del fármaco podría ser debido a la diferencia de la dosis empleada.

Asimismo, los resultados de este trabajo indican que ambos grupos (PAP vs. NO PAP) experimentan una respuesta electrofisiológica al fármaco de inducción diferente. Aunque se requiere una base de datos mayor para corroborar estos resultados, pone en manifiesto la utilidad de registro de EHG para la predicción del éxito de inducción. Estos resultados coinciden con otros autores que han analizado la actividad EMG durante la inducción del parto mediante oxitocina y prostaglandina local (dinoprostona) [14], y han encontrado diferencia estadísticamente significativa en el índice de actividad uterina entre el grupo de PAP y NO PAP a partir del minuto 210. Por último, cabe mencionar que la principal limitación del trabajo fue la población reducida de estudio por lo que se requiere ampliar la base de datos de análisis con el fin de obtener resultados extrapolables.

5. Conclusiones

En el presente estudio se ha caracterizado el estado electrofisiológico del útero en respuesta al fármaco misoprostol mediante la monitorización y análisis de la señal EHG. Se ha observado que el misoprostol produce un aumento de la amplitud de los EHG-bursts así como también un desplazamiento de su contenido espectral hacia altas frecuencias. Estos resultados son consecuencia directa de cambios en las propiedades eléctricas del útero que da lugar a la presencia de contracciones cada vez más intensas y eficientes que son fundamentales para la consecución del parto vaginal. Estos resultados apoyan la viabilidad de desarrollar sistemas expertos para la predicción del éxito de la inducción del parto a partir de parámetros obtenidos de la señal EHG mediante el uso de técnicas de aprendizaje automático.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido subvencionado parcialmente por la empresa Bial y por el Ministerio de Economía y Competitividad y por el fondo Europeo de Desarrollo Regional (DPI2015-68397-R).

Referencias

- [1] Gudex G. Induction of labour with prostaglandin E2 a prospective audit. *NJ Med J*, vol 106, 1993, pp 78-80.
- [2] Baacke KA, Edwards RK. Preinduction cervical assessment. *Clin Obstet Gynecol*, vol 49, 2006, pp 564-72.
- [3] Bishop EH. Pelvic scoring for elective induction. *Obstet Gynecol*, vol 24, 1964, pp 266-8.
- [4] Faltin-Traub EF, Boulvain M, Faltin DL, Extermann P, Irion O. Reliability of the Bishop score labour induction at term. *Eur J Obstet and Gynecol Reprod Biol*, vol 112, 2004, pp 178-181.
- [5] Watson WS, Stevens D, Welter S, Day D. Factor predicting successful labor induction. *Obstet Gynecol*, vol 88, 1996, pp 990-992.
- [6] Crane JM, Delaney T, Butt KD, Bennett KA, Hutchens D, Young DC. Predictors of successful labor induction with oral or vaginal misoprostol. *J Matern Fetal Neonat Med* 2004;15: 319-323.
- [7] Wing DA, Tran S, Paul RH. Factors affecting the likelihood of successful induction after intravaginal misoprostol application for cervical ripening and labor induction. *Am J Obstet Gynecol*, vol 186, 2002, pp 1237-40.
- [8] Garfield RE, Maner WL, "Physiology and electrical activity of uterine contractions," *Semin. Cell Dev. Biol.*, vol. 18, no. 3, 2007, pp. 289-295.
- [9] Fele-Zorz G, Kavsek G, Novak-Antolic Z, Jager F. A comparison of various lineal and non-linear signal processing techniques to separate uterine EMG records of term and preterm delivery groups. *Med Biol Eng Comput*, vol 46, 2008, pp 911-922.
- [10] Vinken M, Rabotti C, Mischi M, van Laar J, Oei S. Nifedipine-induced changes in the electrohysterogram of preterm contractions: feasibility in clinical practice. *Obstet Gynecol*, vol 2010, 2010, pp 1-8.
- [11] Gemzell-Danielsson K, Marions L, Rodriguez A, Spur B, Wong P, Bygdeman M. Comparison between oral and vaginal administration of misoprostol on uterine contractility. *Obstet Gynaecol*, vol 93, 1999, pp 275-80.
- [12] Aronsson A, Bygdeman M, Gemzell-Danielsson K. Effects of misoprostol on uterine contractility following different routes of administration. *Hum Reprod.*, vol 19, no. 1, 2004, pp 81-4.
- [13] Tang OS, Schweer H, Seyberth HW, Lee SW and Ho PC. Pharmacokinetics of different routes of administration of misoprostol. *Hum Reprod*, vol 17, 2002, pp 332-336.
- [14] Toth T. Transcutaneous electromyography of uterus in prediction of labor outcome induced by oxytocine and prostaglandine shape. *Gynaecologia et perinatologia: journal for gynaecology, perinatology, reproductive medicine and ultrasonic diagnostics*, vol 14 no 2, 2005, pp 75-76.

Análisis espectral de la señal de flujo aéreo como ayuda al diagnóstico del síndrome de apnea-hipopnea del sueño en niños

V. Barroso García¹, G. C. Gutiérrez Tobal¹, L. Kheirandish Gozal², D. Álvarez González^{1,3}, F. Vaquerizo Villar¹, A. Crespo Sedano³, F. del Campo Matías^{1,3}, D. Gozal², R. Hornero Sánchez¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, veronica.barroso@gib.tel.uva.es

² Section of Sleep Medicine, Dept. of Pediatrics, Pritzker School of Medicine, Biological Sciences Division, The University of Chicago, Chicago, USA, dgozal@uchicago.edu

³ Servicio de Neumología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España, fsas@telefonica.net

Resumen

Este estudio evalúa la capacidad diagnóstica de la señal de flujo aéreo monocanal para ayudar a identificar el Síndrome de Apnea-Hipopnea del Sueño (SAHS) pediátrico. Se han analizado 501 registros procedentes de niños (6.21±3.41 años). Se ha propuesto una metodología en tres etapas: (i) análisis espectral, (ii) selección de características relevantes y no redundantes empleando el algoritmo Fast Correlation-Based Filter (FCBF) y (iii) clasificación binaria mediante regresión logística (RL). Se obtuvieron tres bandas espectrales de interés: BW_1 (0.2685-0.3128 Hz), BW_2 (0.4059-0.4883 Hz) y BW_3 (0.6637-0.8529 Hz), con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.01$) entre sujetos con SAHS y sin SAHS. El modelo RL alcanzó una alta precisión diagnóstica (87.3%) respecto a otros estudios del estado del arte. Estos resultados señalan que el análisis espectral de la señal de flujo aéreo es de utilidad para ayudar a identificar la presencia de SAHS en sujetos pediátricos.

1. Introducción

El Síndrome de Apnea-Hipopnea del Sueño (SAHS) en niños es un trastorno respiratorio crónico caracterizado por eventos de obstrucción completa (apneas) o parcial (hipopneas) de las vías aéreas superiores del paciente durante el sueño [1]. Esta enfermedad tiene alta prevalencia en niños, estimándose entre un 1% y un 4% [2]. El SAHS tiene graves repercusiones en la salud de los pacientes pediátricos, como hipertensión pulmonar, presión arterial elevada, deficiencias cognitivas, falta de crecimiento somático, enuresis y, en general, disminución de la calidad de vida [1-2].

El método de referencia para diagnosticar el SAHS es la polisomnografía (PSG) nocturna [3]. Esta prueba consiste en la monitorización del paciente en una unidad del sueño especializada para registrar numerosas señales biomédicas durante el sueño, como el electrocardiograma (ECG), electroencefalograma (EEG), electrooculograma (EOG), fotopletismografía (PPG), saturación de oxígeno en sangre (SpO₂) o flujo aéreo. Los registros obtenidos en la PSG se emplean para calcular el índice de apnea-hipopnea (IAH), que es el número de eventos de apnea e hipopnea por hora de sueño [4]. Dicho índice permite determinar la presencia y la severidad del SAHS. No obstante, la PSG

presenta limitaciones, ya que es una prueba compleja, costosa, con elevada lista de espera y especialmente incómoda para los niños [5]. Estos inconvenientes han llevado a la búsqueda de métodos alternativos más simples que puedan utilizarse para realizar el diagnóstico de SAHS infantil.

El análisis de un conjunto reducido de las señales obtenidas de la PSG es una de las alternativas más comunes. El ECG, la PPG, la SpO₂ o el flujo aéreo, han sido frecuentemente analizados mediante técnicas de procesado automático en el contexto del SAHS pediátrico [6-11]. En este estudio se propone el análisis de la señal de flujo aéreo monocanal adquirida mediante termistor como método alternativo a la PSG. El flujo aéreo está involucrado en las definiciones de apnea e hipopnea [12], por lo que la simplificación de la PSG conduce de forma natural a su análisis. Además, la información espectral del flujo aéreo ya ha mostrado su utilidad en otros estudios [11]. Por tanto, se parte de la hipótesis de que es posible simplificar el diagnóstico del SAHS infantil mediante el análisis automático de la señal de flujo aéreo. El objetivo del estudio es evaluar la capacidad diagnóstica de esta señal para identificar la presencia de SAHS en niños. Para ello, se propone emplear técnicas de análisis espectral. La recurrencia de los eventos apneicos justifica la caracterización del flujo aéreo en el dominio de la frecuencia. Para complementar la información que aportan las características espectrales, se incorpora al estudio el índice de desaturación de oxígeno del 3% (ODI3), un parámetro ampliamente utilizado en la práctica clínica. Además, se implementa una etapa de selección automática de características para evitar el uso de información redundante. Finalmente, se evalúa el rendimiento diagnóstico de un modelo de regresión logística construido con las características seleccionadas.

2. Sujetos y señales

En este estudio han participado 501 sujetos pediátricos sospechosos de padecer SAHS, diagnosticados siguiendo las reglas de la *American Academy of Sleep Medicine* (AASM) [12]. La Tabla 1 muestra sus datos demográficos y clínicos. La población bajo estudio se ha distribuido aleatoriamente en dos grupos: entrenamiento (50%) y test

(50%), para entrenar y validar la metodología propuesta, respectivamente. Los especialistas médicos establecieron un umbral de 5 e/h para determinar si un sujeto padecía SAHS (SAHS positivo) o no (SAHS negativo). Los sujetos realizaron la PSG en la Unidad Pediátrica del Sueño del *Comer Children's Hospital* de la Universidad de Chicago (EE.UU.). El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité Ético y todos los tutores legales de los niños dieron su consentimiento informado. La señal de flujo aéreo utilizada en el estudio es la registrada por el termistor durante la realización de la PSG. La frecuencia de muestreo a la que se obtuvo la señal de flujo aéreo fue de 200 Hz y 500 Hz. Se efectuó un remuestreo para igualarlas a 100 Hz., que es la frecuencia recomendada por la AASM [12].

3. Metodología

3.1. Análisis espectral

3.1.1. Determinación de las bandas espectrales de interés

La recurrencia de apneas e hipopneas causa alteraciones en el espectro de la señal de flujo aéreo [11]. Por este motivo, se procedió a estimar la densidad espectral de potencia (*power spectral density*, PSD) de cada registro utilizando el método de Welch (ventana de Hamming de 2^{15} muestras, solapamiento del 50% y longitud de la transformada discreta de Fourier de 2^{16} puntos) [13]. Las PSDs de los sujetos SAHS negativo y SAHS positivo del grupo de entrenamiento se evaluaron con el test de Mann-Whitney para obtener bandas espectrales de interés.

Como puede observarse en la Figura 1, se obtuvieron tres bandas espectrales con *p*-valores estadísticamente significativos ($p < 0.01$):

- **BW₁**: 0.2685 – 0.3128 Hz
- **BW₂**: 0.4059 – 0.4883 Hz
- **BW₃**: 0.6637 – 0.8529 Hz.

La Figura 2 muestra las PSDs normalizadas promedio de los registros SAHS positivo y SAHS negativo del grupo de entrenamiento, así como las regiones espectrales de interés.

3.1.2. Extracción de características

Se desarrolló una fase de extracción de parámetros espectrales para caracterizar la señal de flujo aéreo en BW₁-BW₃. Para cada una de ellas se extrajeron los momentos estadísticos del primer al cuarto orden ($Mf_1 - Mf_4$), (media, desviación típica, skewness y kurtosis) para evaluar la tendencia central, dispersión, asimetría y concentración de la información espectral, respectivamente. De este modo, se obtuvo un total de doce características espectrales. Además, se incorporó el ODI3 al conjunto de características de partida para complementar la información espectral.

	Todos	Entrenamiento	Test
Sujetos (n)	501	250	251
Edad (años)	6.21 ± 3.41	6.02 ± 3.19	6.40 ± 3.62
Varones (n)	314 (62.67%)	160 (64%)	154 (61.35%)
IMC (Kg/m²)	19.63 ± 7.37	19.35 ± 7.02	19.92 ± 7.70
IAH (e/h)	8.26 ± 17.20	7.30 ± 16.80	9.22 ± 17.56

* IMC: índice de masa corporal

Tabla 1. Datos demográficos y clínicos de los sujetos.

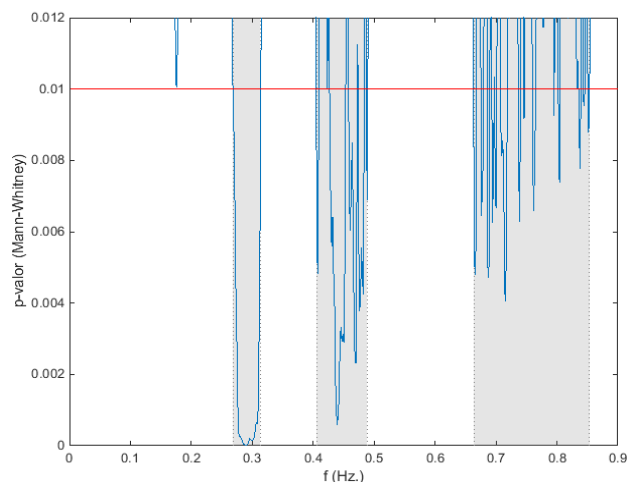


Figura 1. *p*-valores obtenidos mediante el test estadístico de Mann-Whitney para cada frecuencia.

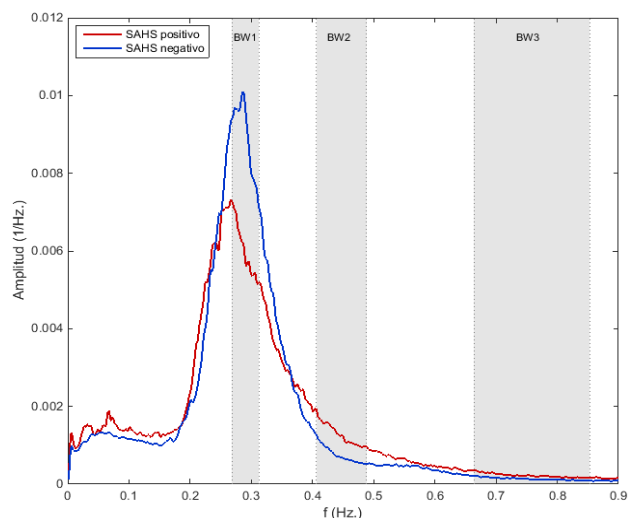


Figura 2. PSDs normalizadas promedio de los grupos SAHS negativo y SAHS positivo.

3.2. Selección de características

Para obtener un subconjunto óptimo entre las características extraídas, incluyendo el ODI3, se aplicó la metodología *Fast Correlation-Based Filter* (FCBF) [14]. FCBF selecciona características relevantes y no redundantes, basándose para ello en la *symmetrical uncertainty* (SU):

$$SU(X_i, Y) = 2 \frac{IG(X_i | Y)}{H(X_i) + H(Y)}, \quad (1)$$

siendo *IG* la *information gain*, *H* la entropía de Shannon, X_i las características del estudio e *Y*, en este caso, el IAH.

El primer paso del algoritmo fue evaluar la relevancia de las características y ordenarlas en orden descendente de acuerdo a sus valores de $SU(X_i, Y)$. En el segundo paso, el algoritmo evaluó la redundancia, calculando para ello la SC entre cada par de características X_i y X_j ($SU(X_i, X_j)$), comenzando por las más relevantes. Cuando $SU(X_i, X_j) \geq SU(X_i, Y)$, la característica X_j se descarta por redundante, ya que comparte más información con la característica X_i , de más relevancia, que con la referencia Y .

3.3. Reconocimiento de patrones

Se realizó clasificación binaria para asignar automáticamente a cada sujeto la clase SAHS negativo o SAHS positivo. Para ello, se utilizó el método de regresión logística (RL) [15]. Este método calcula la probabilidad *a posteriori* de pertenecer al grupo SAHS negativo o al SAHS positivo en función de las variables predictoras, en nuestro caso, en función de las características obtenidas como salida del FCBF. La función logística sigue la expresión:

$$\pi(x) = \frac{e^{\beta_0 + \beta_1 x_1 + \dots + \beta_k x_k}}{1 + e^{\beta_0 + \beta_1 x_1 + \dots + \beta_k x_k}}, \quad (2)$$

siendo $\pi(x)$ la probabilidad *a posteriori*, β_0 el interceptor, β_i ($i=1, \dots, k$) los coeficientes asociados a cada una de las variables predictoras y k el número de variables predictoras. β_0 y β_i se optimizaron utilizando el algoritmo de máxima verosimilitud.

3.4. Análisis estadístico

Los parámetros extraídos de los registros de flujo aéreo no pasaron el test de normalidad de Lilliefors. Por este motivo, se utilizó el test no paramétrico de Mann-Whitney para evaluar la existencia de diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.01$) entre los grupos SAHS negativo y SAHS positivo. El rendimiento diagnóstico de las características y del modelo RL se evaluó en términos de sensibilidad (S), especificidad (E), precisión (P), valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN), razón de verosimilitud positiva (LR+) y razón de verosimilitud negativa (LR-).

4. Resultados

4.1. Grupo de entrenamiento

La Tabla 2 muestra los valores de mediana y rango intercuartil (RIC) de las características espectrales obtenidas en cada una de las tres bandas de interés para los grupos SAHS negativo y SAHS positivo, así como sus correspondientes *p*-valores. Las características con *p*-valores significativos ($p < 0.01$) corresponden a las bandas BW_1 y BW_2 . Las características seleccionadas automáticamente mediante el algoritmo FCBF fueron Mf_1 - BW_3 , Mf_4 - BW_3 y ODI3, formando el subconjunto óptimo de entrada al clasificador RL.

4.2. Grupo de test

Se evaluó el rendimiento diagnóstico del modelo RL construido a partir del subconjunto de características óptimo, alcanzando una precisión del 87.3%, 75.3% S, 94.8% E, 90.1% VPP, 85.9% VPN, 14.5 LR+ y 0.3 LR-.

Caract.	SAHS negativo	SAHS positivo	<i>p</i> -valor	
	Mediana [RIC]	Mediana [RIC]		
BW_1	$Mf_1 (10^{-3})$	9.01 [4.58, 13,18]	5.41 [1.79, 8.78]	< 0.01
	$Mf_2 (10^{-3})$	3.13 [1.38, 4.93]	1.96 [0.46, 4.39]	< 0.01
	$Mf_3 (10^{-1})$	4.22 [0.31, 8.68]	6.00 [0.87, 9.89]	0.0539
	$Mf_4 (10^0)$	2.27 [1.86, 2.89]	2.29 [1.93, 3.17]	0.2267
BW_2	$Mf_1 (10^{-4})$	4.69 [3.08, 8.94]	6.81 [4.20, 12.09]	< 0.01
	$Mf_2 (10^{-4})$	1.47 [0.83, 3.10]	1.83 [0.93, 4.60]	0.0418
	$Mf_3 (10^{-1})$	6.87 [3.15, 10.34]	6.66 [3.49, 10.04]	0.6318
	$Mf_4 (10^0)$	2.64 [2.25, 3.37]	2.71 [2.27, 3.53]	0.6979
BW_3	$Mf_1 (10^{-5})$	8.26 [3.68, 17.57]	12.53 [5.94, 30.88]	0.0147
	$Mf_2 (10^{-5})$	3.84 [1.41, 9.53]	4.68 [2.90, 11.17]	0.0783
	$Mf_3 (10^{-1})$	8.75 [4.63, 13.32]	8.40 [3.81, 11.66]	0.3222
	$Mf_4 (10^0)$	3.15 [2.35, 4.42]	2.97 [2.45, 3.92]	0.7438
ODI3 (10^0)	1.10 [0.42, 2.44]	8.39 [3.50, 14.28]	< 0.01	

Tabla 2. Valor de cada característica en los grupos SAHS negativo y SAHS positivo y *p*-valores.

5. Discusión y conclusiones

En este trabajo se ha evaluado la capacidad diagnóstica de la señal de flujo aéreo para detectar la presencia de SAHS en niños. Para ello, se utilizaron técnicas estadísticas para definir tres bandas espectrales de interés: BW_1 (0.2685-0.3128 Hz), BW_2 (0.4059-0.4883 Hz) y BW_3 (0.6637-0.8529 Hz). Posteriormente se caracterizaron dichas bandas mediante parámetros espectrales (Mf_1 - Mf_4). Se observó que aquellos con diferencias estadísticamente significativas correspondían a las bandas BW_1 (Mf_1 - BW_1 y Mf_2 - BW_1) y BW_2 (Mf_1 - BW_2). Sin embargo, el método FCBF seleccionó automáticamente dos características de la banda BW_3 (Mf_1 - BW_3 y Mf_4 - BW_3) y el ODI3, poniendo de manifiesto la utilidad de dichos parámetros y la redundancia del resto. Así, la selección de parámetros sin utilidad individual está justificada en la literatura a través de la utilidad mostrada en conjunto con otras características [16]. De esta forma, un modelo RL entrenado con las características seleccionadas alcanzó una alta precisión (87.3%).

Diversos estudios han evaluado el uso de un conjunto reducido de señales biomédicas para detectar el SAHS en niños. Shouldice *et al.* [6] analizaron 50 ECGs y aplicaron técnicas de extracción de características temporales y espectrales junto con un clasificador de análisis discriminante cuadrático (*quadratic discriminant analysis*, QDA), obteniendo una precisión del 84.0% (85.7% S y 81.8% E). Deng *et al.* [7] evaluaron la señal de ECG de 52 sujetos y extrajeron características espectrales y no lineales, alcanzando 81.3% S y 72.2% E. Gil *et al.* [8] y Lázaro *et al.* [9] analizaron 21 PPGs y aplicaron metodología *wrapper* para la selección de características, y un modelo de análisis discriminante lineal (*linear discriminant analysis*, LDA) como clasificador, obteniendo una precisión del 80% (87.5% S y 71.4% E) y 86.7% (100.0% S y 71.4% E), respectivamente. Álvarez *et al.* [10] evaluaron la señal de SpO₂ de 176 niños, extrajeron características temporales, espectrales, no lineales e índices de oximetría

convencionales y compararon clasificadores LDA, RL y QDA, alcanzando una precisión máxima del 88.6% (71.4% S y 100% E). Gutiérrez-Tobal *et al.* [11], analizaron características espectrales del flujo aéreo y el ODI3 de la SpO₂, procedentes de 50 sujetos, para formar un modelo RL que alcanzó una precisión del 86.3% (85.9% S y 87.4% E). De este modo, sólo el trabajo de Álvarez *et al.* [10] alcanza una precisión diagnóstica superior a la de este estudio. No obstante, el número de sujetos empleados es sensiblemente inferior (176 vs. 501) y el modelo utiliza más características (5 vs. 3).

El análisis espectral del flujo aéreo también ha sido utilizado para ayudar en el diagnóstico del SAHS en adultos. Gutiérrez-Tobal *et al.* comprobaron su utilidad al incluir características espectrales en modelos de clasificación binaria (precisión del 82.4%) [17] y regresión (coeficiente de correlación intra clase de 0.85) [18]. Sin embargo, en dichos estudios se utilizó un umbral de presencia del SAHS de IAH = 10 e/h, común en adultos pero menos restrictivo que el de niños, por lo que una comparación exhaustiva con los resultados del presente trabajo no es posible.

Este estudio presenta algunas limitaciones. Aunque el número de sujetos es el más elevado de los encontrados en el estado del arte, una base de datos aún más grande reforzaría el carácter general de nuestros resultados. Por otro lado, se ha analizado la señal de flujo aéreo únicamente en el dominio de la frecuencia, por lo que podría ser interesante llevar a cabo análisis complementarios en el dominio del tiempo. Además, en este estudio no se ha contemplado la severidad del SAHS de los pacientes pediátricos mediante la clasificación multiclasa o regresión del IAH, siendo ésta una línea de investigación futura.

En resumen, se han determinado bandas de interés en el espectro del flujo aéreo con diferencias significativas entre sujetos pediátricos SAHS negativo y SAHS positivo. Además, se ha obtenido un subconjunto óptimo de características que maximiza el potencial diagnóstico de la señal de flujo aéreo y su complementariedad con el ODI3. También se ha construido un modelo RL que alcanza un rendimiento diagnóstico elevado respecto a otros estudios del estado del arte. Por ello, estos resultados sugieren que el análisis espectral de la señal de flujo aéreo obtenida mediante termistor es de utilidad para ayudar a detectar el SAHS en niños.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por los proyectos TEC2014-53196-R, RTC-2015-3446-1 y PEJ-2014-P-00349 del Ministerio de Economía y Competitividad y FEDER, el proyecto VA037U16 y VA059U13 de la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León y el proyecto 265/2012 de la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR).

Referencias

- [1] Tauman R, Gozal D. Obstructive Sleep Apnea Syndrome in Children. *Expert Rev Respir Med*, vol 5, no 3, 2011, pp 425-440.
- [2] Kaditis AG, Alonso Alvarez ML, Boudewyns A *et al.* Obstructive sleep disordered breathing in 2–18 year-old children: diagnosis and management. *Eur Respir J*, vol 47, no 1, 2016, pp 69-94.
- [3] Jon C. Polysomnography in Children. En: Pereira KD, Mitchell RB (Eds). *Pediatric Otolaryngology for the Clinician*. Humana Press, 2009, pp 35-47.
- [4] Spruyt K. Pediatric Sleep-Disordered Breathing: Criteria and Spectrum of Disease. En: Kheirandish-Gozal L, Gozal D (Eds). *Sleep Disordered Breathing in Children: A Comprehensive Clinical Guide to Evaluation and Treatment*. Humana Press, 2012, pp 245-260.
- [5] Ryan PJ, Hilton MF, Boldy DA *et al.* Validation of British Thoracic Society guidelines for the diagnosis of the sleep apnoea/hypopnoea syndrome: can polysomnography be avoided? *Thorax*, vol 50, no 9, 1995, pp 972-975.
- [6] Shouldice RB, O'Brien LM, O'Brien C *et al.* Detection of Obstructive Sleep Apnea in Pediatric Subjects using Surface Lead Electrocardiogram Features. *Sleep*, vol 27, no 4, 2004, pp 784-792.
- [7] Deng ZD, Poon CS, Arzeno NM *et al.* Heart rate variability in pediatric obstructive sleep apnea. *Proc 28th Annu Int Conf IEEE - EMBS*, New York, 2006, pp. 3565-3568.
- [8] Gil E, Mendez M, Vergara JM *et al.* Discrimination of Sleep-Apnea-Related Decreases in the Amplitude Fluctuations of PPG Signal in Children by HRV Analysis. *IEEE Trans Biomed Eng*, vol 56, no 4, 2009, pp 1005-14.
- [9] Lázaro J, Gil E, Vergara JM *et al.* Pulse rate variability analysis for discrimination of sleep-apnea-related decreases in the amplitude fluctuations of pulse photoplethysmographic signal in children. *IEEE J Biomed Health Inform*, vol 18, no 1, 2014, 240-246.
- [10] Álvarez D, Kheirandish-Gozal L, Gutiérrez-Tobal GC *et al.* Automated Analysis of Nocturnal Oximetry as Screening Tool for Childhood Obstructive Sleep Apnea-Hypopnea Syndrome. *Proc 37th Annu Int Conf IEEE - EMBS*, Milán, 2015, pp 2800-2803.
- [11] Gutiérrez-Tobal GC, Alonso-Álvarez ML, Álvarez D *et al.* Diagnosis of pediatric obstructive sleep apnea: Preliminary findings using automatic analysis of airflow and oximetry recordings obtained at patients' home. *Biomed Signal Process Control*, vol 18, 2015, pp 401-407.
- [12] Berry RB, Budhiraja R, Gottlieb DJ *et al.* Rules for scoring respiratory events in sleep: update of the 2007 AASM manual for the scoring of sleep and associated events. *J Clin Sleep Med*, vol 8, no 5, 2012, pp 597-619.
- [13] Welch PD. The Use of Fast Fourier Transform for the Estimation of Power Spectra: A Method Based on time Averaging Over Short, Modified Periodograms. *IEEE Trans Audio and Electroacoustics*, vol 15, no 2, 1967, pp 70-73.
- [14] Yu L, Liu H. Efficient feature selection via analysis of relevance and redundancy. *J Mach Learn Res*, vol 5, 2004, pp 1205-1224.
- [15] Hosmer DW, Lemeshow S. *Applied Logistic Regression*. John Wiley and Sons, 2000.
- [16] Guyon I, Elisseeff A. An Introduction to Variable and Feature Selection. *J Mach Learn Res*, vol 3, 2003, pp 1157-82.
- [17] Gutiérrez-Tobal GC, Hornero R, Álvarez D *et al.* Linear and nonlinear analysis of airflow recordings to help in sleep apnoea-hypopnoea syndrome diagnosis. *Physiol. Meas*, vol 33, no 7, 2012, pp 1261-1275.
- [18] Gutiérrez-Tobal GC, Álvarez D, Marcos JV *et al.* Pattern recognition in airflow recordings to assist in the sleep apnoea-hypopnoea syndrome diagnosis. *Med Biol Eng Comput*, vol 51, no 12, 2013, pp 1367-80.

Entornos biomiméticos para la estimulación de células en cultivos tridimensionales

S. Clara-Trujillo¹, C.M. Antolinos-Turpín^{1,2}, C. Ribeiro^{3,4}, S. Lanceros-Méndez^{3,5,6}, G. Gallego Ferrer^{1,2}, J.L. Gómez Ribelles^{1,2}

¹ Centre for Biomaterials and Tissue Engineering (CBIT), Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022, Valencia, España

² Centro de Investigación Biomédica en Red en Biomateriales, Bioingeniería y Nanomedicina (CIBER-BBN), España

³ Centro/Departamento de Física, Universidade do Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal

⁴ CEB – Centre of Biological Engineering, University of Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal

⁵ BCMaterials, Parque Científico y Tecnológico de Bizkaia, 48160 Derio, Spain

⁶ IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbao, Spain

Resumen

El desarrollo de sistemas sintéticos que mimeticen el ambiente en que se desarrollan las diferentes células es de vital importancia, tanto para lograr modelos in vitro de alta fidelidad como para reestablecer in vivo matrices celulares dañadas necesarias para lograr la regeneración tisular. En el tejido óseo es común la aparición de patologías que no son reparadas de forma natural, pese a la capacidad de las células madre mesenquimales para regenerar dicho tejido. El objetivo de este trabajo ha sido la preparación y caracterización de matrices extracelulares sintéticas formadas por micropartículas poliméricas que responden a campos magnéticos en el seno de un hidrogel inyectable natural, para la estimulación local de dichas células en aplicaciones de ingeniería tisular. Se ha llevado a cabo la síntesis y caracterización de materiales, así como ensayos biológicos sobre los entornos biomiméticos planteados, obteniéndose resultados positivos en términos de viabilidad, proliferación y adhesión celular. Por todo ello, los hidrogeles con microesferas desarrollados presentan gran potencial para su uso en el campo de la medicina regenerativa, ya que no comprometen la viabilidad ni la proliferación celular y constituyen un entorno biomimético prometedor para lograr la diferenciación ósea, por su capacidad de transmitir estímulos mecánicos a las células encapsuladas.

1. Introducción

El tejido óseo posee capacidad postnatal de crecimiento controlado, así como de reparación en respuesta a estímulos mecánicos pudiendo regenerar de forma natural lesiones de un tamaño limitado. Sin embargo, en defectos de tamaño considerable, esta capacidad de auto-reparación no es suficiente. Además, dicha capacidad declina a lo largo de la vida del individuo, reflejándose en la aparición de patologías como la osteoporosis. El aumento en la esperanza de vida de la población ha supuesto un incremento en la incidencia de este tipo de patologías, existiendo una necesidad creciente de desarrollar terapias para las mismas [1].

Las células madre mesenquimales (MSCs), que se encuentran en el estroma de la médula ósea, presentan un potencial osteogénico elevado dado que son las progenitoras clásicas del tejido óseo. Es decir, mediante procesos de diferenciación originan dos de los principales

tipos celulares de dicho tejido: los osteoblastos (células encargadas de la formación ósea mediante la síntesis de la matriz orgánica) y los osteocitos (células cuya función principal se considera la regulación de los procesos de remodelado óseo). Así, en el ámbito de la ingeniería tisular, que pretende lograr la regeneración de zonas dañadas en las que existe ya un defecto en el hueso, el primer paso es conseguir la diferenciación de las MSCs en osteoblastos de forma eficiente.

En este contexto, el desarrollo de entornos biomiméticos sintéticos capaces de transmitir de forma eficaz los estímulos necesarios a las MSCs adquiere gran importancia. Concretamente cabe destacar la necesidad de lograr la transmisión eficaz de estímulos mecánicos a estas células, ya que las MSCs responden mediante diferenciación osteogénica a dichos estímulos, tanto *in vivo* como *in vitro* [2]. Una de las alternativas disponibles para proporcionar dicho estímulo mecánico se basa en el uso de campos magnéticos.

Este trabajo se centra en la preparación entornos biomiméticos capaces de estimular localmente a las MSCs para inducir su diferenciación osteoblástica. Las matrices seleccionadas han sido micropartículas poliméricas, basadas en el ácido poli-L-láctico (PLLA) y con nanopartículas magnéticas dispersas en su estructura, embebidas en una matriz de hidrogel inyectable de gelatina. De esta forma la carga magnética de las micropartículas les confiere la capacidad de desplazarse en presencia de campos magnéticos e inducir deformaciones en el hidrogel, que acaban suponiendo cargas mecánicas locales aplicadas sobre las MSCs.

En este sentido, cabe destacar que los *scaffolds* o soportes que contienen micro-/nanoesferas presentan ventajas frente a los convencionales [3]. En el caso concreto de los hidrogeles, la incorporación de microesferas a su estructura puede ir dirigida a lograr una mejora en su funcionalidad, convirtiéndolos de soportes adecuados pero pasivos a *scaffolds* inductivos, que pueden servir como vehículos para la transmisión de estímulos

biológicamente relevantes a las células encapsuladas en ellos, siendo esto lo que se pretende en el presente trabajo.

2. Materiales y métodos

Se ha perseguido fabricar microesferas de PLLA de tamaño similar al celular que pueden ser inyectadas junto con la disolución acuosa precursora del hidrogel y las células, y se ha evaluado la capacidad de dicho entorno biomimético para garantizar la correcta adhesión celular, necesaria para la transmisión eficaz del estímulo mecánico.

2.1. Obtención y caracterización de microesferas

Se han obtenido dos tipos de microesferas poliméricas, las de control y las cargadas con MNPs (nanopartículas magnéticas) susceptibles a campos magnéticos. Ambos tipos se obtuvieron por el método de síntesis por emulsión simple y evaporación de disolvente siguiendo el método descrito por Vikingsson *et al.* [4]. La fase no acuosa empleada consistió en una disolución de PLLA (Corbión Purac) en cloroformo (Scharlab) al 2% w/v, mientras que la fase acuosa o emulsificante fue una solución en agua desionizada de poli(vinilalcohol) (PVA) (Sigma-Aldrich) al 4% w/v. En el caso de las microesferas magnéticas, las MNPs de ferrita (Ferrotec Ferrofluid) se incorporaron a la fase no acuosa previamente a la obtención de las microesferas. Una vez obtenidas las microesferas se sometieron a tratamiento de plasma para mejorar su hidrofiliencia.

Para caracterizar morfológicamente las microesferas, se observaron en Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de campo (FESEM) (Ultra 55, Zeiss Auriga Compact, Alemania). Con el objetivo de corroborar que las esferas obtenidas se encontraban en el rango de tamaños deseado, alrededor de 50 μm de diámetro, se tomaron imágenes mediante lupa binocular (MZ APO, Leica Microsystems, Alemania). Se llevaron también a cabo ensayos de calorimetría diferencial de barrido (DSC) empleando un equipo PYRIS-DSC 8000 (Perkin Elmer, Estados Unidos), con el objetivo de determinar el grado de cristalinidad de los diferentes tipos de microesferas, que tiene un impacto en su velocidad de degradación.

2.2. Hidrogeles de gelatina modificada con tiramina

La matriz vehículo para la transmisión del estímulo mecánico proporcionado por las microesferas a las células consistió en un hidrogel inyectable de gelatina modificada mediante injerto con tiramina (TA) siguiendo el protocolo descrito por Poveda *et al.* [5]. La gelatina modificada es capaz de gelificar en pocos minutos a 37°, en presencia del enzima *hoseradish peroxidase* (HRP) y H_2O_2 de forma no citotóxica. El entrecruzamiento enzimático de la gelatina se consigue mediante la adición secuencial de un volumen correspondiente al 10% del hidrogel de HRP (12.5U/mL) y de un volumen equivalente de disolución 20 mM de H_2O_2 en el tampón *Calcium Free Krebs Ringer Buffer* (CF-KRB) a un volumen correspondiente al 80% del volumen total del hidrogel de gelatina liofilizada al

3% w/v previamente disuelta a 37°C en el tampón CF-KRB. Se evaluó el grado de injerto de TA logrado mediante medida espectrofotométrica a 275 nm (CECIL-CE9200 UV/VIS, Buck Scientific, Estados Unidos).

2.3. Cultivos celulares

Se realizaron cultivos *in vitro* a corto y largo plazo de las líneas celulares L929 (Sigma Aldrich) y MC3T3-E1 (Riken cell bank, Japan). Se trabajó con hidrogeles de 50 μL . Para obtener los composites (hidrogeles con microesferas), se dispersaron las microesferas previamente esterilizadas en la disolución de gelatina-TA-HRP a una concentración del 1% w/v respecto al volumen total del hidrogel. La suspensión resultante se homogenizó y se incorporó a las células preparadas de forma paralela, se depositaron 45 μL de la suspensión obtenida sobre la placa de cultivos y a continuación, los 5 μL de H_2O_2 correspondientes. Seguidamente se esperó 5 minutos para permitir la reticulación del hidrogel antes de adicionar 200 μL de medio de cultivo DEMEM, con antibiótico P/S a una dilución 1:100, suplementado con FBS al 10%. Finalmente se incubaron estáticamente en atmosfera controlada, 37°C y 5% de CO_2 , durante los distintos tiempos de cultivo, con cambio de medio cada 72 horas.

Viabilidad celular (Live/Dead)

Se ensayó la viabilidad celular a tiempos cortos (3 y 24 horas) en un cultivo con preosteoblastos MC3T3-E1 mediante un ensayo *Live/Dead* con el objetivo descartar la posible citotoxicidad asociada al H_2O_2 , que posee elevada capacidad oxidante. Se sembraron 4 réplicas de hidrogeles de gelatina-TA con 25000 células/hidrogel. Se empleó el kit *Live/Dead cell Viability/Citotoxicity kit for mammalian cells L3224* (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante. Finalizado el protocolo, se lavaron las muestras con DPBS y se observaron en el microscopio de fluorescencia (DMI3000b, Leica Microsystems, Alemania).

Proliferación celular (MTS)

Se llevó a cabo un cultivo celular con preosteoblastos MC3T3-E1, en el que se ensayaron 3 tiempos (1, 3 y 7 días) y 2 materiales (hidrogeles de gelatina-TA con microesferas-PLLA y con microesferas-PLLA-MNPs). Se ensayaron 4 réplicas con células (100000 células/hidrogel) y 2 réplicas sin células por material y tiempo. Una vez finalizado el tiempo de incubación, se lavaron los hidrogeles con DPBS. Se añadieron 500 μL de la dilución MTS-medio sin rojo fenol (1:5) y se incubaron durante 2 horas a 37°C en oscuridad. Tras la incubación se leyó la absorbancia a 490/690 nm en el lector de microplacas UV/Vis Synergy-HTX (BioTek, Estados Unidos). Finalmente, se llevó a cabo un análisis ANOVA-two ways de los resultados obtenidos con test de Tukey de comparaciones múltiples, con un intervalo de confianza del 95%, mediante el software Graph Pad Prism7 (Estados Unidos).

Adhesión celular (Tinción Actina/DAPI)

Para determinar la morfología y distribución celular en los hidrogeles se realizó un cultivo con fibroblastos L929 a 3 horas y 7 días. Para cada uno de los tiempos ensayados, se trabajó con 3 réplicas por material: 2 con células (100000 células/hidrogel) y 1 sin células. Finalizado el cultivo, las muestras se sometieron a 2 lavados con DPBS y se fijaron mediante incubación durante 20 minutos con solución al 10% de formalina a 4°C. Tras la fijación se repitieron los lavados con DPBS y se incubaron las muestras 10 minutos a T ambiente con Triton X-100 al 0.1%. Se realizaron 2 lavados con DPBS y se incubaron durante 1 hora a T ambiente con 150 µL de una disolución DAPI/faloidina en DPBS (10 µL de faloidina, 2 µL de DAPI y enrasar con DPBS a 1 mL). Finalmente, las muestras se lavaron con DPBS y se incubaron *overnight* en sacarosa al 30% w/v, se incluyeron en el medio sintético de montaje OCT y se congelaron a -80°C. Los bloques criopreservados resultantes se emplearon para obtener secciones de un espesor de 10 µm mediante micrótopo criogénico (CM1520, Leica, Alemania).

3. Resultados y discusión

3.1. Obtención y caracterización de microesferas poliméricas

La caracterización de la topografía superficial mediante FESEM permitió advertir que existen diferencias a nivel superficial entre las microesferas control (Figura 1.a) y las magnéticas (Figura 1.c). Mientras que las primeras presentan una superficie lisa, las esferas con MNPs poseen una superficie rugosa, con algunas burbujas. Esto podría deberse a la presencia superficial de nanopartículas o a una mayor cristalinidad del PLLA por acción de las MNPs actuando como agentes nucleantes de cristalitas.

Los termogramas resultantes del ensayo de DSC permitieron establecer que la inclusión de las MNPs en la estructura de PLLA de las microesferas supone un aumento en la cristalinidad de las mismas (Tabla 1), lo que justifica las diferencias observadas en las imágenes de FESEM.

Muestras	PLLA+MNPs	PLLA
Cristalinidad (x. %)	32.4 ± 7%	-

Tabla 1. Cristalinidad de las micropartículas obtenida del primer barrido de DSC. (-) valor de cristalinidad de 0.

La distribución de tamaños, que se presenta en la Figura 1.b para las microesferas control y en la 1.d para las magnéticas, reveló un diámetro medio de 66.4 µm y 36.7 µm respectivamente. Ambos diámetros medios se encuentran dentro del rango de tamaños celulares deseados (5-65 µm). Rango que se estableció como objetivo pues se desea tener una matriz de hidrogel con células encapsuladas que reciban una estimulación mecánica por el movimiento alterno de esferas de tamaños similar a las células. Las esferas cargadas con

MNPs presentan menores diámetros que las esferas control.

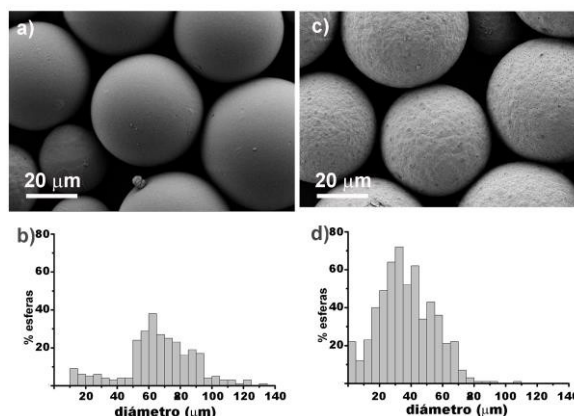


Figura 1. a,c) Imágenes FESEM de microesferas, sin y con MNPs respectivamente, tomadas a 2kV. b,d) Histograma de la distribución de diámetros de microesferas sin y con MNPs respectivamente.

3.2. Síntesis de hidrogeles inyectables de gelatina

Las medidas espectrofotométricas confirmaron que había tenido lugar el injerto con TA, estableciendo que se había logrado un grado de injerto de $2.17 \cdot 10^{-7}$ moles de grupos fenol/ mg de gelatina y un grado de sustitución del 27.2%.

3.3. Cultivos celulares

Viabilidad celular (Live/Dead)

El uso de H₂O₂ para la reticulación de los hidrogeles es especialmente crítico porque, pese a que es un constituyente fisiológico celular, está considerado como citotóxico. La concentración intracelular del mismo está altamente regulada y permanece en condiciones normales a concentraciones de entre 1 y 700 nM. Mientras que concentraciones superiores a 1 µM se considera que causan estrés oxidativo en las células y pueden inducir arresto del ciclo celular y muerte celular.

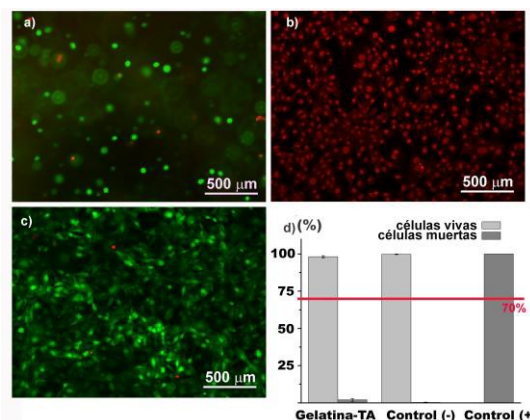


Figura 2. Imágenes representativas de las imágenes analizadas en el Live/Dead a tiempo 24 horas. a) Gelatina-TA b) Control positivo c) Control negativo d) % de viabilidad celular.

En el sistema planteado, durante la reacción enzimática oxidativa de gelificación, el H₂O₂ es descompuesto en una molécula de agua por mediación de la HRP, de manera

que una vez se produce la reticulación, prácticamente la totalidad de ese H_2O_2 ha sido convertida en agua. Tras realizar el ensayo de viabilidad celular se obtuvieron resultados positivos para los 2 tiempos ensayados, la Figura 2 recoge los resultados del ensayo a 24 horas, para el que se obtuvo un porcentaje de 98.1% de células vivas frente al 1.8% de células muertas (Figura 2.e). Para ambos tiempos, el % de células vivas se encuentra por encima del 70%, por lo que se cumple el requisito establecido por la normativa ISO10993-5 Parte 5: Test for in vitro cytotoxicity para concluir que no existe citotoxicidad asociada a la reticulación de la gelatina.

Proliferación celular (MTS)

Este ensayo se llevó a cabo con el objetivo de determinar la proliferación celular asociada a cada una de las matrices evaluadas. En la Figura 3 se puede apreciar un aumento de los valores de absorbancia con el tiempo, lo que implica que las células proliferan en ambas matrices durante los tiempos ensayados. No se observan diferencias significativas entre las matrices testadas en ninguno de los tiempos, esto confirma que la incorporación de la ferrita en la estructura de las microesferas no tiene consecuencias negativas ni positivas para la viabilidad celular respecto al control en condiciones estáticas de cultivo.

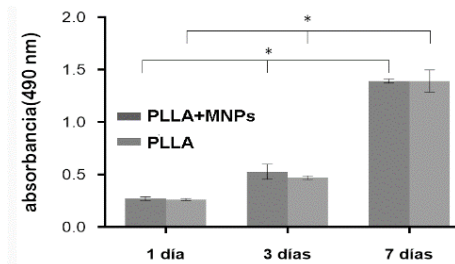


Figura 3. Proliferación celular medida mediante MTS.

Adhesión celular (Tinción Actina/DAPI)

La finalidad de este ensayo es evaluar la morfología de las células cultivadas en los entornos biomiméticos planteados. Esto permite determinar si dichos entornos favorecen o no la correcta adhesión celular, ya que, en el caso de los fibroblastos, los procesos de adhesión van acompañados de una remodelación del citoesqueleto de actina, se produce un cambio de una morfología esférica hacia una aplanada con patrón estrellado [6].

Los resultados obtenidos fueron positivos, al comparar las imágenes obtenidas a partir de muestras pertenecientes a diferentes tiempos (3 horas y 7 días) se pudieron apreciar cambios significativos en la morfología en los tres materiales evaluados (hidrogeles gelatina-TA, hidrogeles gelatina-TA con microesferas-PLLA e hidrogeles gelatina-TA con microesferas-PLLA-MNPs). Se puede apreciar el claro cambio en la morfología celular indicativo de que los fibroblastos se adhieren al hidrogel (Figura 4), esto demuestra que el uso de gelatina con secuencias RGD, que favorecen la adhesión, como matriz es una buena elección en este aspecto.

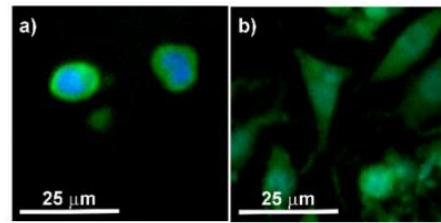


Figura 4. Imágenes tinción Actina/DAPI sobre gelatina-T con microesferas-PLLA-MNPs tras 3 horas (a) y 7 días (b).

4. Conclusiones

Se ha conseguido la obtención y caracterización de forma individual de los biomateriales que integran el sistema, microesferas de PLLA control y magnéticas y gelatina-TA. Se ha logrado la integración de ambos materiales para generar los entornos biomiméticos planteados, su uso para encapsulamiento celular y su evaluación mediante técnicas de cultivo in vitro con resultados positivos. Por ello, es posible concluir que se ha logrado un entorno biomimético celular con potencial capacidad para la transmisión de impulsos mecánicos y con posibilidades de emplearse en el campo de la medicina regenerativa.

Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación de la Generalitat Valenciana a través del proyecto PROMETEO/2016/063. El CIBER-BBN es una iniciativa creada por el VI Plan Nacional de I+D+i 2008-2011, Iniciativa Ingenio 2010, programa Consolider y financiada por el Instituto de Salud Carlos III con ayuda del Fondo Europeo de Desarrollo Regional.

Referencias

- [1] Tang D, Tare R. S, Yang L, Williams D. F, Ou K. L, Oreffo R. (2016). Biofabrication of bone tissue: Approaches, challenges and translation for bone regeneration. *Biomaterials*, 83, 363-382.
- [2] Delaine-Smith R.M, Reilly G.C. Mesenchymal stem cell responses to mechanical stimuli. *Muscles, Ligaments and Tendons Journal*, 2(3), 2012, 169-80.
- [3] Wang H, Sander C.G, Leeuwenburgh, Yubao Li, Jansen. The use of micro- and nanospheres as functional components for bone tissue regeneration. *Tissue Engineering*. 18(1): 24-39 (2012).
- [4] Vikingsson L, Viñals-Guitart A, Valera-Martínez A, Riera J, Vidaurre A, Gallego-Ferrer G, Gómez-Ribelles, J.L. Local deformation in a hydrogel induced by an external magnetic field. *Journal of Materials Science*, 51 (22), 9979-9990 (2016).
- [5] Poveda-Reyes S, Rodrigo-Navarro A, Gamboa-Martínez C, Rodríguez-Cabello J, Quintanilla-Sierra, L, Edlund U, Gallego-Ferrer, G. Injectable composites of loose microfibers and gelatin with improved interfacial interaction for soft tissue engineering. *Polymer*, 74, 224-234 (2015).
- [6] Khalili A, Ahmad R. A Review of cell adhesion studies for biomedical and biological applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(8), 18149-18184 (2015).

Estudio Mediante Simulación de las Causas de la Acumulación de Sodio en Pacientes con Insuficiencia Cardíaca

J. León Jordán¹, B. Trénor Gomis¹

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, jleojor@gmail.com, btrenor@ci2b.upv.es.

Resumen

La insuficiencia cardíaca (IC) es una patología que desencadena arritmias ventriculares de gravedad. En condiciones de IC se produce acumulación de sodio en los miocitos ventriculares, contribuyendo al desarrollo de dichas arritmias. En el presente trabajo se emplea el modelo de potencial de acción (PA) ventricular de O'Hara et al. (ORd) para estudiar los mecanismos de acumulación de sodio en condiciones de IC. Sobre este modelo se han realizado modificaciones con la finalidad de mejorar el comportamiento de la corriente de sodio (I_{Na}) y para simular las condiciones de IC se han modificado determinados parámetros del modelo. Con la finalidad de comprobar la validez de los modelos basados en células madre pluripotenciales inducidas y diferenciadas para el estudio de las causas de la acumulación de sodio, se ha empleado el modelo desarrollado por Paci et al. (Paci2015), en el cual se ha añadido el efecto de la corriente lenta de sodio (I_{NaL}). Los resultados muestran que la I_{NaL} y la corriente del intercambiador sodio-calcio son las principales responsables de la acumulación de sodio en condiciones de IC. Mediante simulaciones de "action potential clamp" se ha podido deducir que la prolongación del PA en sí tiene muy poca influencia sobre la acumulación de sodio. Finalmente, se ha comprobado que el comportamiento de la I_{NaL} en las células madre es muy distinto al de los miocitos ventriculares y por tanto los modelos de células madre no son una plataforma adecuada para el estudio de la acumulación de sodio en miocitos ventriculares.

1. Introducción

Las arritmias cardíacas representan hoy en día una de las principales causas de mortalidad en los países desarrollados [1]. El estudio de éstas mediante modelización y simulación permite avanzar de manera sustancial en el conocimiento de las causas que desencadenan arritmias potencialmente mortales. Dichas arritmias acontecen en situaciones patológicas como es la insuficiencia cardíaca (IC) [2], [3]. Durante esta patología la acumulación del ion sodio es fuente de importantes desajustes arritmogénicos. Las causas de esta acumulación no están completamente esclarecidas. Se postula que el aumento de la corriente lenta de sodio (I_{NaL}) tiene un papel clave [4].

Dicha corriente está presente durante la mayor parte del potencial de acción, aportando una entrada de Na^+ durante la fase de meseta [5]. Por tanto, en condiciones patológicas, un aumento de I_{NaL} conlleva un aumento de la duración del potencial de acción (APD) pudiéndose producir post-despolarizaciones prematuras (EADs) [6].

Los cambios producidos afectan principalmente al aumento del APD ya que se produce una disminución de las corrientes de repolarización, así como una disminución en la acción de la bomba Na^+/K^+ , además de producirse un aumento de la actividad de la I_{NaL} .

Recientemente, el empleo de células madre embrionarias diferenciadas en cardiomiocitos (hESC-CMs) para la investigación de patologías cardíacas ha demostrado ser una herramienta de gran utilidad. Como alternativa, existen técnicas para la generación de células madre pluripotenciales inducidas a partir de tejido humano (hiPSC). Estas células pluripotenciales pueden ser diferenciadas de forma factible en cardiomiocitos (hiPSC-CMs). Estas técnicas son de gran utilidad en los estudios farmacológicos ya que pueden suponer un sustituto a los modelos animales y las limitaciones que conllevan, además de poder generar una terapia específica para el paciente. Empleando la combinación de experimentos in-vivo y de los modelos simulados se pueden superar muchas limitaciones y esto supone un gran avance en la evaluación de la seguridad clínica [7], [8].

El objetivo del presente trabajo consiste en realizar un análisis de las causas por las cuales se acumula el ion sodio en el espacio intracelular en pacientes que presentan IC. La realización de dicho análisis se llevará a cabo mediante el empleo de modelos matemáticos y simulaciones por ordenador cuyas ecuaciones describen el comportamiento celular para la generación de un potencial de acción, resolviendo las ecuaciones mediante cálculo computacional. Posteriormente, se evaluará la capacidad de las células hiPSC-CMs como método de estudio de las causas de la acumulación de Na^+ mediante simulación.

2. Métodos

Los modelos de potencial de acción (PA) empleados, así como los protocolos de estimulación se describen a continuación.

Para la simulación del comportamiento de las células miocárdicas se ha empleado el modelo celular de PA ventricular humano desarrollado por O'Hara et al. [9] (ORd).

Con el objetivo de mejorar el modelo endocárdico de PA humano ORd [9], Passini et al. [10] realizaron modificaciones para obtener una mayor coincidencia con los datos experimentales. Sin embargo, en el presente

trabajo no se han aplicado todas las modificaciones descritas por Passini al modelo ORd, ya que con éstas no se podía trabajar para las condiciones de IC. Con la finalidad de aproximar I_{Na} a la corriente de ten Tusscher et al. [11], se ha modificado la formulación de las compuertas de inactivación y recuperación de I_{Na} (ecuación 1), modelo ORdm.

$$h_{ORd} = j_{ORd} = \frac{1}{1 + e^{\frac{v+82.9}{6.09}}} \rightarrow h_{opt} = j_{opt} = \frac{1}{1 + e^{\frac{v+78.5}{6.22}}} \quad (1)$$

Para simular la actividad eléctrica del ventrículo humano en condiciones de IC se han realizado modificaciones en los parámetros del modelo de PA humano ORdm las cuales han sido descritas por Gómez et al.[12]

Para el estudio del comportamiento de las células madre pluripotenciales inducidas y diferenciadas se ha empleado el modelo desarrollado por Paci et al. 2013 (Paci2013) [13]. con las mejoras introducidas por el mismo autor en 2015 [14] (modelo Paci2015).

Posteriormente se ha añadido al modelo de Paci2015 la acción de la corriente lenta de sodio (I_{NaL}), empleando la formulación descrita en el modelo ORd.

2.1. Condiciones de simulación.

Se han realizado las simulaciones del modelo ORd y las distintas variantes empleando un método variable de integración (ode15s), realizando siempre 1000 estímulos a una frecuencia de 1 Hz.

Para el cálculo de las contribuciones individuales a la $[Na^+]_i$, se integran las curvas de cada una de las corrientes implicadas durante el último PA. Tanto de los canales iónicos, como de las bombas y de los intercambiadores.

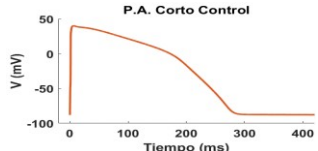
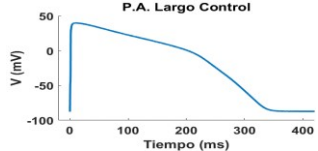
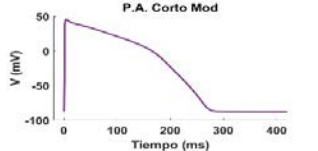
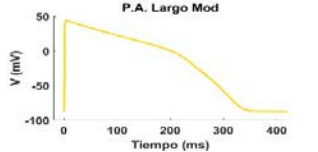
Potencial de acción de entrada	Condiciones de Simulación
 <p>P.A. Corto Control</p>	Modelo original ORd con IC
 <p>P.A. Largo Control</p>	
 <p>P.A. Corto Mod</p>	Modelo modificado ORdm con IC
 <p>P.A. Largo Mod</p>	Modelo modificado ORdm

Tabla 1. Protocolos action potential clamp

Para separar el efecto de la prolongación del APD en sí o del remodelado en condiciones de IC sobre la acumulación de Na^+ se realiza un protocolo de fijación de PA (tabla 1), el cual consiste en aplicar un PA fijo a un modelo y estudiar los efectos del mismo sobre las corrientes y las concentraciones iónicas. En el primer caso y tercer caso se estudia el efecto del remodelado de corrientes en IC y en el segundo y cuarto casos la prolongación de APD sin remodelado.

Para la obtención de los resultados se realizan las simulaciones de los modelos con un paso de tiempo fijo de 0.1 ms, a diferencia del resto de simulaciones en las que se emplea un paso de tiempo variable.

En el caso de las simulaciones del modelo de Paci2015 [13] y sus variantes, se emplea igualmente el método ode15s, estimulando 800 veces a una frecuencia de 1Hz.

3. Resultados y discusión

Tras realizar las modificaciones en el modelo de ORd se pueden observar los resultados en la Figura 1.

En la Figura 1A se pueden observar los cambios en la forma del PA de los distintos modelos. Comparando el modelo ORd con el ORdm se aprecia un aumento en el pico máximo, esto es debido al aumento de amplitud de la corriente I_{Na} , así mismo se produce una disminución en la duración del APD debida a la reducción de I_{NCX} . Por otro lado, al aplicar condiciones de IC se produce un aumento del APD, siendo esto lo normal ya que en IC se produce un aumento de la corriente lenta de Na^+ , de las corrientes Ca^{2+} y una disminución de las corrientes de K^+ .

A la hora de mejorar el modelo ORd, se debe tener en cuenta que la principal premisa es conseguir un aumento en la amplitud de I_{Na} . Como se observa en la Figura 1B la amplitud de I_{Na} aumenta 100 $\mu A/\mu F$ entre el modelo ORd y el mejorado, ORdm, así como un adelanto temporal del pico máximo.

En la Figura 1C se muestra cómo la concentración intracelular de sodio aumenta significativamente su valor al aplicar condiciones de IC.

Las corrientes que más aumentan su aporte a la concentración total de Na^+ intracelular en condiciones de IC son I_{NCX} e I_{NaL} , como se aprecia en la Figura 1D. Esto es debido en gran medida al aumento de dichas corrientes al aplicar las modificaciones para simular la IC, así como de la proteína CaMK, la cual influye en ambas corrientes generando una situación de realimentación positiva. Por otro lado, observándose la corriente de la bomba sodio-potasio (I_{NaK}), la cual cumple una función compensatoria del Na^+ , también aumenta su actividad, pero no lo suficiente como para neutralizar los efectos de I_{NCX} e I_{NaL} , gracias a esta corriente la acumulación de Na^+ es menor.

Con la finalidad de comprobar el efecto del aumento del APD sobre la concentración de sodio intracelular $[Na^+]_i$ se emplean distintos protocolos de *action potential clamp*. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 2, de los cuales se deduce que la prolongación de APD en condiciones de IC tiene una influencia muy leve sobre la acumulación de sodio.

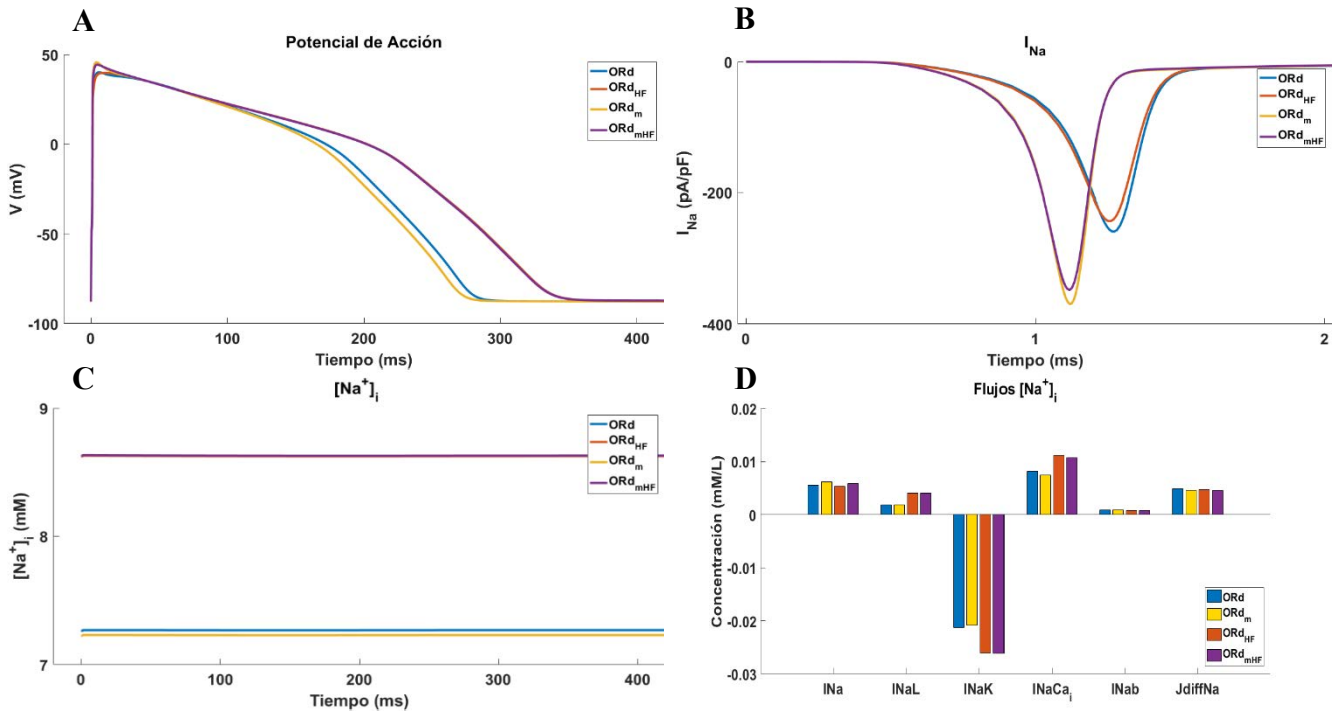


Figura 1. A. Potencial de acción, B. I_{Na} , C. $[Na^+]_i$, D. Flujos de sodio tras simular con los cuatro modelos basados en ORd.

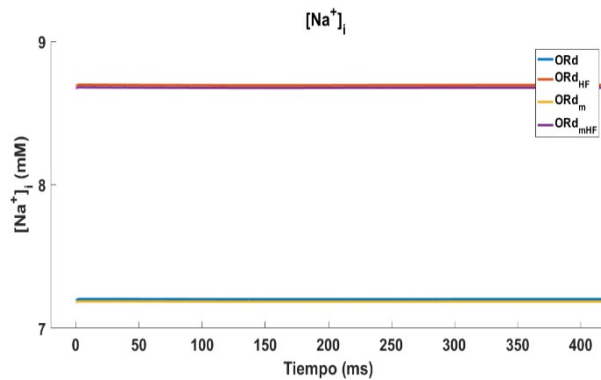


Figura 2. Representación de la variación de la $[Na^+]_i$ con los protocolos de AP clamp.

Para realizar la comparativa entre los modelos de miocito ventricular y de hiPSC-CM y analizar el efecto que produce el aumento de la acción de la I_{NaL} , se emplean los modelos ORdm y Paci2015 y éstos aumentando cuatro veces la I_{NaL} , obteniendo cuatro modelos distintos. En las representaciones gráficas, el modelo ORd modificado (ORd_m) se muestra de color azul. En color rojo se encuentran los trazos correspondientes a este mismo modelo pero con la I_{NaL} multiplicada por 4 (ORd_mx4). Los resultados del modelo Paci2015 con I_{NaL} en color amarillo (Paci_{INaL}). Por último, se emplea el color violeta para la representación de los valores obtenidos del modelo Pacio2015 con I_{NaL} aumentada 4 veces (Paci_{INaL}x4).

Los resultados obtenidos, mostrados en la Figura 3, presentan diferencias de comportamiento entre las células hiPSC-CMs y los cardiomiocitos ventriculares tras aumentar la actividad de la I_{NaL} . En efecto, en los miocitos

ventriculares se produce una mayor concentración de sodio intracelular y en las células hiPSC-CMs ocurre el efecto contrario, es decir, se reduce dicha concentración. En vista a estos resultados las células hiPSC-CMs no resultan válidas para el estudio de la acumulación de sodio intracelular.

4. Conclusiones

Los resultados de nuestras simulaciones muestran que la I_{NaL} y la corriente del intercambiador sodio-calcio son las que mayor influencia presentan sobre la acumulación de Na^+ en condiciones de IC. Mediante simulaciones de *action potential clamp* se ha podido deducir que la prolongación de APD condiciones de IC o situaciones de elevada I_{NaL} tiene muy poca influencia sobre la acumulación de sodio. Además, el comportamiento de las células madre en estas situaciones es muy distinto al de los miocitos ventriculares. En vista a estos resultados las células hiPSC-CMs no resultan válidas para el estudio de la acumulación de sodio intracelular.

Agradecimientos:

Este trabajo ha sido parcialmente subvencionado por el Programa Prometeo (PROMETEO/2016/088) de la Conselleria d'Educació Formació I Ocupació, Generalitat Valenciana.

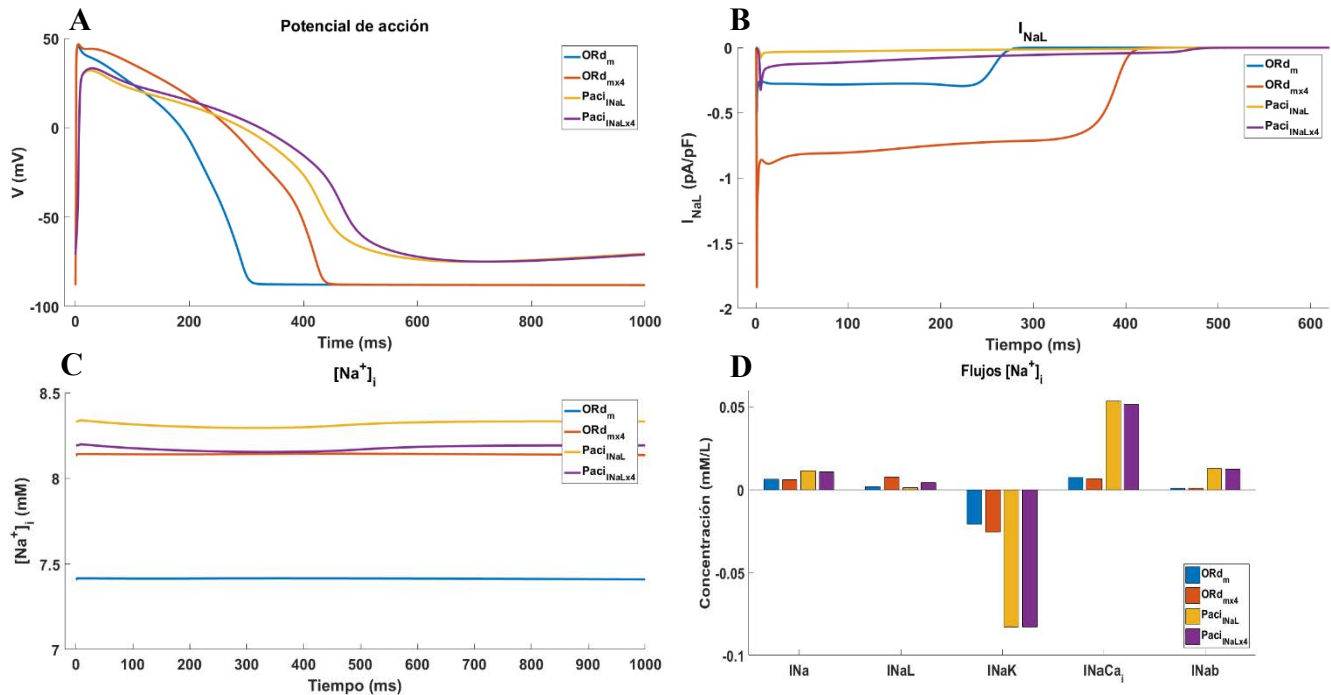


Figura 3. Comparativa tras el aumento de I_{NaL} en los modelos ORd modificado y en Paci2015 con I_{NaL}

Referencias

- [1] J. F. Gomez, K. Cardona, and B. Trenor, "Lessons learned from multi-scale modeling of the failing heart," *J. Mol. Cell. Cardiol.*, vol. 89, pp. 146–159, 2015.
- [2] R. Coronel, R. Wilders, A. O. Verkerk, R. F. Wiegeler, D. Benoist, and O. Bernus, "Electrophysiological changes in heart failure and their implications for arrhythmogenesis," *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis.*, vol. 1832, no. 12, pp. 2432–2441, 2013.
- [3] K. M. Holzem and I. R. Efimov, "Arrhythmogenic remodelling of activation and repolarization in the failing human heart," *Europace*, vol. 14, no. SUPPL. 5, pp. 50–57, 2012.
- [4] C. E. Clancy, Y. Chen-Izu, D. M. Bers, L. Belardinelli, P. A. Boyden, L. Csernoch, S. Despa, B. Ferrero, L. C. Hool, L. Izu, R. S. Kass, W. J. Lederer, W. E. Louch, C. Maack, A. Matiazzi, Z. Qu, S. Rajamani, C. M. Ripplinger, O. M. Sejersted, B. O'Rourke, J. N. Weiss, A. Varró, and A. Zaza, "Deranged sodium to sudden death," *J. Physiol.*, vol. 593, no. 6, pp. 1331–45, 2015.
- [5] A. Zaza, L. Belardinelli, and J. C. Shryock, "Pathophysiology and pharmacology of the cardiac 'late sodium current,'" *Pharmacol. Ther.*, vol. 119, no. 3, pp. 326–339, 2008.
- [6] B. Trenor, K. Cardona, J. F. Gomez, S. Rajamani, J. M. Ferrero, L. Belardinelli, and J. Saiz, "Simulation and mechanistic investigation of the arrhythmogenic role of the late sodium current in human heart failure," *PLoS One*, vol. 7, no. 3, pp. 11–13, 2012.
- [7] M. Paci, J. Hyttinen, B. Rodriguez, and S. Severi, "Human induced pluripotent stem cell-derived versus adult cardiomyocytes: an in-silico electrophysiological study on ionic current block effects," *Submitt. to Br. J. Pharmacol.*, 2013.
- [8] J. Ma, L. Guo, S. J. Fiene, B. D. Anson, J. A. Thomson, T. J. Kamp, K. L. Kolaja, B. J. Swanson, C. T. January, K. Kl, S. Bj, and J. Ct, "High purity human-induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes: electrophysiological properties of action potentials and ionic currents," *Am J Physiol Hear. Circ Physiol*, vol. 301, no. 5, pp. 2006–2017, 2011.
- [9] T. O'Hara, L. Virág, A. Varró, and Y. Rudy, "Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: Model formulation and experimental validation," *PLoS Comput. Biol.*, vol. 7, no. 5, 2011.
- [10] E. Passini, A. Mincholé, R. Coppini, E. Cerbai, B. Rodriguez, S. Severi, and A. Bueno-Orovio, "Mechanisms of pro-arrhythmic abnormalities in ventricular repolarisation and anti-arrhythmic therapies in human hypertrophic cardiomyopathy," *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 2015.
- [11] K. H. W. J. ten Tusscher, D. Noble, P. J. Noble, and A. V Panfilov, "A model for human ventricular tissue," *AJP - Hear. Circ. Physiol.*, vol. 286, no. 4, pp. H1573–H1589, 2004.
- [12] J. F. Gomez, K. Cardona, L. Romero, J. M. Ferrero, and B. Trenor, "Electrophysiological and structural remodeling in heart failure modulate arrhythmogenesis. 1D simulation study," *PLoS One*, vol. 9, no. 9, 2014.
- [13] M. Paci, J. Hyttinen, S. Severi, K. Aalto-Setälä, and S. Severi, "Computational Models of Ventricular- and Atrial-Like Human Induced Pluripotent Stem Cell Derived Cardiomyocytes," *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 41, no. 11, pp. 2334–48, 2013.
- [14] M. Paci, J. Hyttinen, B. Rodriguez, and S. Severi, "Human induced pluripotent stem cell-derived versus adult cardiomyocytes: An in silico electrophysiological study on effects of ionic current block," *Br. J. Pharmacol.*, vol. 172, no. 21, pp. 5147–5160, 2015.

Análisis de los patrones de conectividad neuronal mediante EEG en la enfermedad de Alzheimer

P. Núñez¹, J. Poza¹, C. Gómez¹, S.J. Ruiz¹, M. A. Tola-Arribas², M. Cano³, R. Hornero¹

¹ Teoría de la señal e ingeniería telemática, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, {pablo.nunez, saul.ruiz}@gib.tel.uva.es, {jespoz, cargom, robhor}@tel.uva.es

² Departamento de Neurología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España, mtola.nrl@gmail.com

³ Departamento de Neurofisiología Clínica, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España, meanopo@saludcastillayleon.es

Resumen

El objetivo de este estudio fue caracterizar el acoplamiento neuronal en la enfermedad de Alzheimer en estado basal. Se calcularon dos medidas de conectividad funcional: el módulo al cuadrado de la coherencia (MSCOH) y la parte imaginaria de la coherencia (ICOH), para 37 pacientes con enfermedad de Alzheimer y 19 controles sanos a partir de registros electroencefalográficos (EEG). Los resultados mostraron diferencias significativas entre los controles y los pacientes con enfermedad de Alzheimer en distintas bandas de frecuencia tanto para MSCOH como para ICOH. Además se diseñó un clasificador mediante regresión logística que obtuvo una precisión de 85.71% y un área bajo la ROC de 0.9090. Nuestros resultados sugieren que ICOH y MSCOH podrían aportar información complementaria a la hora de caracterizar la conectividad neuronal en la enfermedad de Alzheimer.

1. Introducción

La demencia por enfermedad de Alzheimer (EA) es la patología neurodegenerativa más común y la principal causa de demencia [1]. La EA se extiende por las distintas regiones cerebrales según se desarrolla, lo que lleva a un aumento de su severidad [2]. La enfermedad afecta a la transmisión sináptica debido a la acumulación de la proteína beta-amiloide y tau, cuya acumulación genera patrones aberrantes en los circuitos neuronales [1].

Numerosos estudios sugieren que las alteraciones en la actividad neuronal durante el reposo (*resting-state*) se corresponden con trastornos en el procesamiento y la transmisión de información en el cerebro [1]. En este estudio se calcularon dos medidas de conectividad funcional con el propósito de estudiar patrones de acoplamiento anormales en la EA en estado basal. Las medidas calculadas fueron el módulo al cuadrado de la coherencia (MSCOH) y la parte imaginaria de la coherencia (ICOH). Ambas medidas son no direccionales y permiten evaluar en conjunto la sincronía de fase y la correlación entre amplitudes entre dos señales [3]. MSCOH es un método ampliamente tratado en la literatura [1], mientras que ICOH es una técnica relativamente novedosa que ha crecido en popularidad en estudios electroencefalográficos (EEG) de conectividad [3]. El objetivo del estudio era analizar los patrones de conectividad en la EA asociados a la MSCOH y a la

ICOH, así como evaluar su potencial para discriminar entre pacientes con EA y sujetos sanos de edad similar.

2. Materiales

2.1. Sujetos

La muestra del estudio consistió en 56 sujetos, de los cuales 19 eran sujetos sanos de control (C) y 37 pacientes con EA. No se encontraron diferencias significativas entre las edades de los dos grupos (test *U* de Mann-Whitney). Los pacientes con demencia debido a EA fueron diagnosticados de acuerdo a los criterios clínicos del *National Institute on Aging and Alzheimer's Association* (NIA-AA) [4] y son pacientes con EA clínicamente probable. Se evaluó su estado funcional mediante la escala Bayer ADL y su reserva cognitiva mediante el cuestionario de reserva cognitiva. Los controles eran personas de edad avanzada sin deterioro cognitivo y sin historial de enfermedades neurológicas o psiquiátricas. Las características socio-demográficas de cada grupo se especifican en la tabla 1. Todos los participantes y los cuidadores de los pacientes fueron informados sobre la investigación y el protocolo del estudio y dieron su consentimiento escrito e informado. El Comité Ético del Hospital Universitario "Río Hortega" (Valladolid, España) aprobó el protocolo del estudio de acuerdo al Código Ético de la Asociación Médica Mundial

Datos	EA	C
Número de sujetos	37	19
Edad (años)	79.2 ± 6.9	76.6 ± 7.2
Sexo (H:M)	13:24	9:20
Nivel de educación (A:B)	27:10	25:4
CRC (rango 0-25)	7.7 ± 6.3	9.9 ± 4.6
MMSE	18.7 ± 6.2	28.9 ± 1.3

Tabla 1. Características socio-demográficas de la base de datos. Valores medios ± desviación estándar. EA: enfermedad de Alzheimer; C: control; H: hombre; M: mujer; A: educación primaria o inferior; B: educación secundaria o superior; CRC: cuestionario de reserva cognitiva; MMSE: Mini-Mental State Examination.

(Declaración de Helsinki).

2.2. Registros electroencefalográficos

Las señales EEG se registraron mediante un sistema EEG de 19 canales (XLTEK[®], Natus Medical) en el Departamento de Neurofisiología Clínica del Hospital Universitario “Río Hortega” (Valladolid, España).

La actividad EEG se adquirió en los electrodos F_{p1}, F_{p2}, F_z, F₃, F₄, F₇, F₈, C_z, C₃, C₄, T₃, T₄, T₅, T₆, P_z, P₃, P₄, O₁ y O₂, a una frecuencia de muestreo (f_s) de 200 Hz. Se pidió a los sujetos que mantuvieran los ojos cerrados y permanecieran despiertos e inmóviles durante la adquisición del EEG. Para prevenir el adormecimiento se monitorizaron los EEG en tiempo real. Los episodios de somnolencia, artefactos oculares y actividad muscular fueron identificados y marcados durante el registro.

Se registraron cinco minutos de actividad EEG en reposo de cada sujeto siguiendo el protocolo descrito. A continuación se aplicó un preprocesado de cada registro EEG en tres pasos: (i) filtrado usando un filtro de ranura de 50 Hz y un filtro paso-banda de ventana de Hamming con frecuencias de corte de 1 y 70 Hz; (ii) segmentación en épocas de 5 segundos y (iii) rechazo de artefactos visuales (seleccionándose una media de 27.7 ± 8.4 épocas de 5 segundos sin artefactos por sujeto, media \pm desviación típica).

3. Métodos

3.1. Coherencia

Existen una serie de medidas que analizan la consistencia entre los EEG de diferentes pares de electrodos con el objetivo de caracterizar la conectividad e interacciones entre regiones del cerebro [5]. La coherencia (COH) se define como el espectro cruzado de las señales complejas X e Y dividido por la raíz cuadrada del producto del espectro de potencia de X e Y [5]:

$$COH_{xy}(f,t) = \frac{S_{XY}(f,t)}{\sqrt{P_X(f,t)P_Y(f,t)}} \quad (1)$$

donde S_{XY} es el espectro cruzado de X e Y , y P_X y P_Y son el espectro de potencia de X e Y respectivamente.

COH es un número complejo. Si calculamos el módulo al cuadrado de COH obtenemos MSCOH. Esta medida se define como:

$$MSCOH_{xy}(f,t) = |COH_{xy}(f,t)|^2 = \frac{|S_{XY}(f,t)|^2}{P_X(f,t)P_Y(f,t)} \quad (2)$$

3.2. Parte imaginaria de la coherencia

Cuando COH se proyecta sobre el eje imaginario se obtiene la ICOH. La principal ventaja de ICOH es que es una medida insensible a falsas interacciones debidas a la conducción de volumen [6], que puede provocar que la actividad cerebral de una sola fuente se observe en varios canales. Esto es gracias a que ICOH descarta las interacciones con una diferencia de fase de 0° o 180° [6]. Por otra parte, ICOH es por lo general una medida de

valores pequeños, lo que hace que aumente el riesgo de perder interacciones significativas [7].

3.3. Análisis estadístico

En primer lugar se realizó un análisis exploratorio para evaluar la distribución de los valores de MSCOH e ICOH. La normalidad se comprobó con el test de Shapiro-Wilk y la homocedasticidad con el test de Levene. Los resultados mostraron que los valores no cumplían las condiciones para usar un test paramétrico. Por tanto se utilizó el test U de Mann-Whitney para evaluar las diferencias entre C y EA para cada par de canales.

3.4. Clasificación

Con el propósito de evaluar la capacidad de discriminación de MSCOH e ICOH se desarrolló un análisis clasificatorio. Las características para la clasificación fueron el promedio de los valores de MSCOH e ICOH en cada canal con el resto de canales, para cada banda de frecuencia: delta (0.5-4 Hz), zeta (θ , 4-8 Hz), alfa (8-13 Hz), beta-1 (13-19 Hz), beta-2 (19-30 Hz) y gamma (30-70). En total había 114 características para cada medida (19 canales \times 6 bandas de frecuencia) y por tanto 228 características en total. Se realizó un procedimiento de selección de características para reducir este conjunto a 6 características con el fin de evitar el sobreajuste u *overfitting*, ya que el número de sujetos era de 56. De esta forma se seleccionaron las características más adecuadas para la clasificación [8]. Para ello se realizó una regresión logística (LR, *Logistic Regression*) binaria con un procedimiento de selección hacia adelante condicional de 6 pasos. Tras seleccionar las características se realizó un procedimiento de validación cruzada dejando uno fuera para evaluar el rendimiento de la clasificación y obtener la curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*). El clasificador en este último paso fue una LR.

4. Resultados y discusión

4.1. Patrones de conectividad con MSCOH e ICOH

Se calcularon MSCOH e ICOH entre todos los canales en las seis bandas de frecuencia típicas (delta, zeta, alfa, beta-1, beta-2 y gamma) para cada época. Tras ello, para cada sujeto, se calculó la media de los valores de todas las épocas. La Figura 1 muestra los valores promedio para cada grupo bajo estudio de las medias de MSCOH e ICOH en cada banda de frecuencia, así como los resultados del test U de Mann-Whitney para comparar los valores entre los dos grupos. Las diferencias entre grupos solo se muestran cuando son significativas ($p < 0.05$). En el caso de MSCOH se observa que el grupo de pacientes con EA presenta un aumento de la conectividad en bajas frecuencias (delta y zeta) comparado con los controles, lo que concuerda con otros estudios [1]. Por otra parte, en la banda alfa se observa un descenso de MSCOH en los pacientes con EA con respecto a los controles. Este comportamiento ha sido observado también por otros estudios [1].

La comparativa entre controles y pacientes con EA para ICOH muestra información diferente a MSCOH, ya que

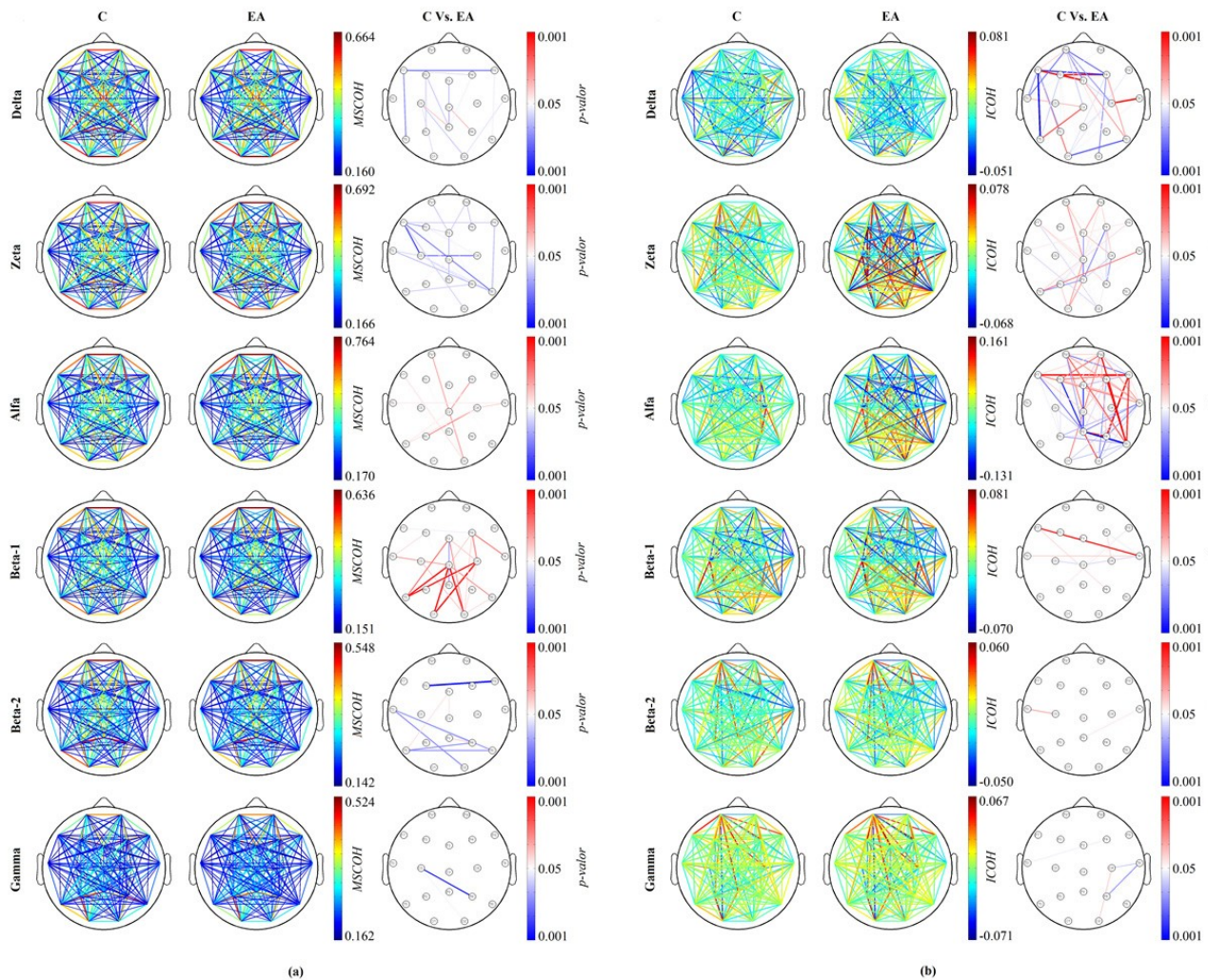


Figura 1. Análisis de acoplamiento para (a) MSCOH y (b) ICOH. Las columnas izquierda y central muestran los valores promedio de las medidas para los dos grupos analizados (C y EA). Los colores cálidos indican un acoplamiento mayor mientras que los fríos representan un menor acoplamiento. La columna de la derecha muestra los p-valores estadísticamente significativos en la comparación de acoplamiento entre grupos. Los valores en rojo indican que las medidas son mayores en los controles, mientras que los valores en azul indican que los valores son mayores en los pacientes con EA.

dentro de la misma banda se observan pares de electrodos donde el grupo de control muestra mayor acoplamiento y otros donde ocurre el comportamiento contrario.

Las mayores diferencias se encuentran localizadas en la banda alfa, donde por lo general los controles tienen mayor conectividad, sobre todo en el hemisferio derecho. Es interesante observar que las diferencias son más marcadas en ICOH que en MSCOH en las bandas delta y alfa, lo que podría indicar una mayor robustez de la medida a bajas frecuencias. Además, como se indicó previamente, una ventaja de ICOH es que es inmune a la conducción de volumen [6].

4.2. Resultados de clasificación

Las características seleccionadas por la regresión LR por pasos se indican en la tabla 2. Tras la selección de características se comprobó la capacidad discriminatoria tanto de ICOH en conjunto con MSCOH como de cada medida por separado mediante un procedimiento de validación cruzada dejando uno fuera.

En el caso de la clasificación con las dos medidas en conjunto, en este último paso el umbral de clasificación se fijó en 0.8, ya que maximizaba el producto de sensibilidad y especificidad. El procedimiento de clasificación obtuvo valores de sensibilidad del 83.78%, especificidad del 89.47%, precisión del 85.71% y área bajo la curva ROC de 0.9090. La curva ROC para los tres grupos de características se muestra en la figura 2. Los resultados de la clasificación son aceptables, ya que son equiparables a

Medida	Canales y bandas
MSCOH + ICOH	MSCOH: F7 en Theta y Cz en Beta-1. ICOH: C3 en Theta, Fz en Alpha, Fp2 en Alpha, P3 en Beta-2
MSCOH	F7 en Theta, Cz en Beta-1
ICOH	F4 en Delta, T6 en Alpha, P3 en Beta-1

Tabla 2. Características seleccionadas por la LR binaria por pasos

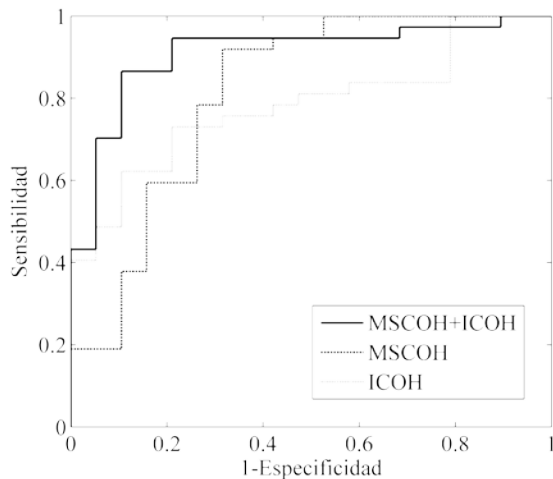


Figura 2. Curva ROC correspondiente al proceso de validación cruzada dejando uno fuera.

los obtenidos otros estudios de conectividad en Alzheimer con bases de datos de tamaño similar o menor basados en magnetoencefalograma, resonancia magnética o tomografía por emisión de positrones [9], [10]. Además, el hecho de que del total de 6 características seleccionadas, 4 son correspondientes a ICOH indica que esta medida, de forma complementaria con MS COH, podría ser un potencial biomarcador en la EA.

4.3. Limitaciones y líneas futuras

Este estudio tiene algunas limitaciones. En primer lugar, sería conveniente aumentar la base de datos con más sujetos e intentar equilibrar el número de controles y pacientes con EA. Asimismo, sería interesante incluir sujetos con deterioro cognitivo leve, para analizar la sensibilidad de los métodos en la fase prodrómica de la EA.

Además, sería conveniente introducir otras medidas de conectividad, como el *phase slope index*, el *phase locking value* [3] o el *phase lag index* [11], para estudiar la posible complementariedad de las mismas con ICOH. La última medida, al igual que ICOH, es inmune a la conducción de volumen y es más sensible a la sincronización que ICOH [11].

5. Conclusión

En este estudio hemos caracterizado la actividad neuronal en la EA mediante dos medidas de conectividad funcional, entre ellas una medida novedosa que es insensible a la conducción de volumen (ICOH). Nuestros resultados sugieren que ICOH podría ser una medida útil para dicha caracterización, ya que reflejó mayor número de diferencias significativas entre grupos que la MS COH en algunas bandas (delta y alfa). Además, los resultados obtenidos con el procedimiento de clasificación utilizado sugieren que ICOH y MS COH podrían aportar información complementaria para este fin.

Agradecimientos

Este estudio ha sido parcialmente financiado por los proyectos TEC2014-53196-R del Ministerio de Economía y Competitividad y FEDER, y el proyecto VA111A11-2

de la Conserjería de Educación. Pablo Núñez cuenta con una beca de Promoción de empleo joven e implantación de la Garantía Juvenil en I+D+i del Ministerio de Economía y Competitividad y la Universidad de Valladolid.

Referencias

- [1] C. Babiloni, R. Lizio, N. Marzano, P. Capotosto, A. Soricelli, A. I. Triggiani, S. Cordone, L. Gesualdo, and C. Del Percio, "Brain neural synchronization and functional coupling in Alzheimer's disease as revealed by resting state EEG rhythms," *Int. J. Psychophysiol.*, vol. 103, pp. 88–102, 2015.
- [2] M. Pievani, W. de Haan, T. Wu, W. W. Seeley, and G. B. Frisoni, "Functional network disruption in the degenerative dementias," *Lancet Neurol.*, vol. 10, no. 9, pp. 829–843, 2011.
- [3] A. M. Bastos and J.-M. Schoffelen, "A Tutorial Review of Functional Connectivity Analysis Methods and Their Interpretational Pitfalls," *Front. Syst. Neurosci.*, vol. 9, no. January, pp. 1–23, 2016.
- [4] G. McKhann, D. S. Knopman, H. Chertkow, B. Hyman, C. R. Jack, C. Kawas, W. Klunk, W. Koroshetz, J. Manly, R. Mayeux, R. Mohs, J. Morris, M. Rossor, P. Scheltens, M. Carrillo, S. Weintrub, and C. Phelps, "The diagnosis of dementia due to Alzheimer's disease: Recommendations from the National Institute on Aging- Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease," *Alzheimers Dement.*, vol. 7, no. 3, pp. 263–269, 2011.
- [5] B. J. Roach and D. H. Mathalon, "Event-related EEG time-frequency analysis: An overview of measures and an analysis of early gamma band phase locking in schizophrenia," *Schizophr Bull.*, vol. 34, no. 5, pp. 907–926, 2008.
- [6] G. Nolte, O. Bai, L. Wheaton, Z. Mari, S. Vorbach, and M. Hallett, "Identifying true brain interaction from EEG data using the imaginary part of coherency," *Clin. Neurophysiol.*, vol. 115, no. 10, pp. 2292–2307, 2004.
- [7] E. van Diessen, T. Numan, E. van Dellen, A. W. van der Kooi, M. Boersma, D. Hofman, R. van Lutterveld, B. W. van Dijk, E. C. W. van Straaten, A. Hillebrand, and C. J. Stam, "Opportunities and methodological challenges in EEG and MEG resting state functional brain network research," *Clin. Neurophysiol.*, vol. 126, no. 8, pp. 1468–1481, 2015.
- [8] I. Guyon and a Elisseeff, "An introduction to variable and feature selection," *J. Mach. Learn. Res.*, vol. 3, pp. 1157–1182, 2003.
- [9] K. R. Gray, P. Aljabar, R. A. Heckemann, A. Hammers, and D. Rueckert, "Random forest-based similarity measures for multi-modal classification of Alzheimer's disease," *Neuroimage*, vol. 65, pp. 167–175, 2013.
- [10] C. Gómez, R. Hornero, D. Abásole, A. Fernández, and J. Escudero, "Analysis of MEG background activity in Alzheimer's disease using nonlinear Methods and ANFIS," *Ann. Biomed. Eng.*, vol. 37, no. 3, pp. 586–594, 2009.
- [11] C. J. Stam, G. Nolte, and A. Daffertshofer, "Phase lag index: Assessment of functional connectivity from multi channel EEG and MEG with diminished bias from common sources," *Hum. Brain Mapp.*, vol. 28, no. 11, pp. 1178–1193, 2007.

Evaluación de un dispositivo inalámbrico para el registro de la actividad electromiográfica del músculo diafragma

M. Ràfols-de-Urquía^{1,2}, J. Estévez-Piorno^{1,2}, A. Torres^{1,2,3}, L. Estrada^{1,2,3}, R. Jané^{1,2,3}

¹Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Barcelona, España

{mrafol, jestevez, atorres, lestrada, rjane}@ibecbarcelona.eu

²Universitat Politècnica de Catalunya (UPC) – Barcelona Tech, Barcelona, España

³Biomedical Research Networking Center in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), España

Resumen

La evaluación clínica y deportiva requiere el desarrollo de sistemas de adquisición de señales biomédicas de alta calidad. Sin embargo, estos sistemas implican una gran limitación: los datos deben ser registrados en laboratorios. En los últimos años se han desarrollado dispositivos inalámbricos multimodales que pueden poner fin a estos problemas. En este proyecto se han evaluado señales electromiográficas de los músculos respiratorios, en especial del diafragma (EMGdi), obtenidas a partir de un dispositivo inalámbrico. De forma simultánea se han adquirido las mismas señales con un sistema estándar de adquisición de señales biomédicas, para realizar un estudio comparativo de parámetros e información fisiológica extraída de dichas señales. Las señales han sido registradas en 9 sujetos sanos que siguieron un protocolo respiratorio. Estas señales han sido filtradas y procesadas usando técnicas basadas en el dominio frecuencial y temporal. El ritmo cardíaco ha sido estimado tanto a partir de la medida directa del registro ECG, como indirectamente a partir de las señales electromiográficas respiratorias, mientras que el ritmo respiratorio y la fuerza del músculo han sido estimados a partir de la amplitud de las señales EMGdi durante la contracción respiratoria. Los resultados obtenidos de los datos registrados por sistemas inalámbricos son muy similares a los obtenidos mediante sistemas convencionales con cables, demostrando ser una alternativa que permite adquisiciones y estudios fuera de los laboratorios en situaciones mucho más reales.

1. Introducción

En las últimas décadas, el mundo ha experimentado un avance tecnológico incuestionable, marcado por la aparición y desarrollo de tecnologías basadas en la comunicación sin cables. Hasta hace relativamente poco la monitorización de parámetros fisiológicos quedaba restringida al ámbito clínico, pero la paulatina introducción de la importancia del bienestar en la consciencia social y la necesidad de actividad física para equilibrar nuestras vidas sedentarias ha coincidido con la evolución de dispositivos capaces de registrar esta actividad ofreciendo información de interés para los sujetos que lo usan. Dentro de este tipo de tecnología se encuentra el dispositivo inalámbrico de estudio: Shimmer™ [1], cuyo uso puede ser de gran utilidad en campos de la salud, medicina y deporte, ya que es capaz de registrar parámetros cinemáticos, como aceleración tri-axial, orientación respecto a la gravedad, orientación geomagnética y altimetría [2], [3], y fisiológicos, como la temperatura y potenciales de acción,

[4], [5] ofreciendo además distintas modalidades de registros.

El presente estudio se centra en el registro de la actividad del músculo del diafragma, ya que se trata del músculo más importante implicado en el proceso de la respiración, siempre activo durante la inspiración. Realizando una electromiografía del diafragma (EMGdi), cada inspiración queda reflejada por un aumento de la frecuencia y amplitud de la señal. Además, esta señal se encuentra altamente influenciada por la actividad cardíaca y modulada por la respiración, por lo que mediante técnicas de procesamiento adecuadas se pueden obtener otros parámetros fisiológicos, como son el ritmo cardíaco o Heart Rate (HR), la frecuencia respiratoria o Respiratory Rate (RR) y el impulso neural respiratorio o Neural Respiratory Drive (NRD). Estudios previos han estimado dichos parámetros a partir de la señal EMGdi registrada mediante equipos de adquisición convencionales [4] [6].

El objetivo pues de este trabajo es: La evaluación del dispositivo Shimmer para el registro sin cables de parámetros fisiológicos de la actividad cardíaca y de la musculatura respiratoria, que pueden ser de gran importancia durante la actividad física y práctica del deporte. Estos parámetros son:

- El ritmo respiratorio
- El ritmo cardíaco
- El esfuerzo y fatiga de los músculos que intervienen en la respiración

2. Materiales y Métodos

El protocolo experimental, fue aprobado por el Instituto de Bioingeniería de Catalunya y se realizó en 9 sujetos sanos, cuatro mujeres y cinco hombres de edad 22 ± 2 años, 173 ± 8 cm de altura, 67 ± 12 kg de peso y de condición física variable (ninguno sedentario), tras firmar un consentimiento de participación.

2.1. Protocolo respiratorio

Los sujetos realizaron 15 ciclos respiratorios a distintas cargas, impuestas mediante un dispositivo desarrollado por Phillips™ llamado Threshold™ IMT (Inspiratory Muscle Trainer), empleado para el entrenamiento de músculos respiratorios [7]. Este dispositivo genera una presión en boca determinada requiriendo un esfuerzo adicional a los músculos que intervienen en la inspiración. Se aplicaron 4

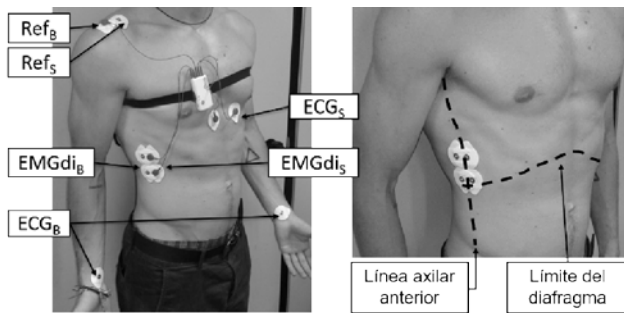


Figura 1. Esquema de posicionamiento de los electrodos durante la adquisición.

niveles de carga inspiratoria a cada sujeto: 0, 19, 29 y 41 cm H₂O, durante un minuto cada carga. Entre carga y carga el sujeto descansó 5 minutos. Durante el protocolo se pidió a los sujetos que permanecieran relajados, que procuraran respirar usando el diafragma para procurar evitar el ruido proveniente de músculos vecinos, y se les proporcionó una pinza para evitar la respiración nasal. Cada sujeto pudo controlar su patrón respiratorio procurando mantener el mismo flujo de aire durante las 4 cargas, gracias a la visualización de las señales en tiempo real en un monitor. Protocolos similares han sido implementados en estudios previos para la monitorización de la actividad de los músculos respiratorios [6], [8].

2.2. Protocolo de adquisición

La adquisición del EMGdi se llevó a cabo con un dispositivo Shimmer3 (Shimmer Research Ltd., Dublin, Ireland). Simultáneamente se empleó un sistema robusto de referencia para la adquisición de parámetros fisiológicos, Biopac (Biopac™ MP150). Se utilizaron electrodos de superficie en configuración bipolar colocados en la parte inferior derecha del pecho, zona de aposición del diafragma y siguiendo la línea axilar anterior para el registro de la actividad EMGdi [6] con Biopac (EMGdi_B) y Shimmer (EMGdi_s) (Figura 1).

Aunque se ha demostrado que es posible obtener tanto la frecuencia respiratoria como el ritmo cardíaco a partir de la señal EMGdi [4], se adquirió también la señal cardíaca con ambos equipos para utilizarla como referencia en la obtención de la frecuencia cardíaca. Para el registro de ECG con Biopac (ECG_B), los electrodos positivo y negativo se posicionaron en las muñecas en base a la primera derivación de Einthoven. Para medir el ECG con Shimmer (ECG_S), se colocaron los electrodos en la parte central e inferior de la caja torácica [5], dada la limitada longitud de los cables. Los electrodos de referencia de Biopac y Shimmer se colocaron en la clavícula (Ref_B y Ref_S, respectivamente). Todos los electrodos empleados fueron del mismo tipo: circulares, no invasivos, tipo Ag/AgCl y con un área de contacto de 11 mm (EL501, Biopac Systems, Inc.).

Para mejorar la adherencia y reducir la impedancia, la piel de cada sujeto fue previamente exfoliada con un gel abrasivo (Nuprep®, Weaver and Company, Aurora CO, USA) y limpiada con alcohol. Para mejorar la conductividad, se aplicó un gel electrolítico (Signa Gel®, Parker Laboratories, Inc. USA) en el área de contacto del electrodo.

Se registró la presión en boca durante las cuatro cargas (Presión) mediante un transductor de presión diferencial (TSD160, Biopac Systems, Inc.), conectado a un amplificador diferencial (DAC100C, Biopac Systems, Inc.), de la cual se derivó también la señal de flujo (Flujo). Todas las señales fueron registradas simultáneamente. Para que el estudio comparativo fuera lo más objetivo posible, lo ideal hubiera sido que ambos equipos registraran la señal en el mismo punto e instante. Dado que no es posible conectar los dos equipos al mismo par de electrodos, para el registro del EMGdi, se emplearon dos pares de electrodos colocados uno al lado del otro (Figura 1), para adquirir señales lo más parecidas posibles.

En el caso del dispositivo Shimmer las señales fueron registradas a una frecuencia de muestreo de 1024 Hz, una resolución de 24 bits, un ancho de banda entre DC y 8400 Hz y una ganancia de 6, y fueron grabadas en la tarjeta SD que ofrece el dispositivo, para luego ser importadas en la plataforma: Software Consensus (Shimmer Research Ltd.), y exportadas a formato Matlab™. Adicionalmente, el seguimiento de las señales fue posible gracias a la tecnología Bluetooth™ que ofrece el dispositivo permitiendo la visualización en tiempo real en un ordenador portátil habilitado. Para el registro de las señales de Biopac (MP150, Biopac Systems Inc.), se empleó una frecuencia de muestreo de 2000 Hz, una resolución de 24 bits, un ancho de banda entre 1 y 5000 Hz y una ganancia de 1000. Las señales fueron visualizadas en tiempo real en un monitor (Figura 2) y guardadas en el ordenador mediante el software AcqKnowledge (v. 3.2, Biopac Systems Inc.).



Figura 2. Sistema de adquisición del flujo respiratorio y la presión inspiratoria.

2.3. Condicionamiento y procesado de las señales

Las señales registradas con Shimmer se interpolaron para compensar las posibles pérdidas, mientras que las registradas con Biopac debieron ser remuestreadas a 1024 Hz. Las señales se filtraron con un filtro paso-banda tipo Butterworth y orden 4 de doble pasada (0.5-40 Hz para ECG, y 5-400 Hz para EMGdi). Para optimizar la evaluación, se sincronizaron las señales mediante técnicas basadas en la correlación cruzada, pues existe un inevitable retraso entre la misma señal registrada con dos equipos de adquisición distintos. Finalmente se seleccionó de cada

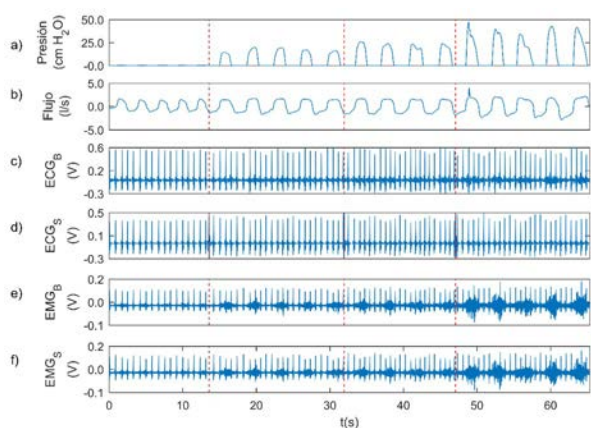


Figura 3. Señales adquiridas durante el protocolo experimental de respiración (Sujeto 1). (a) Señal de presión, (b) Señal de flujo, (c) ECG_B registrado con Biopac, (d) ECG_S registrado con Shimmer, (e) EMGdi_B registrado con Biopac, (f) EMGdi_S registrado con Shimmer.

señal el tiempo correspondiente a cinco ciclos respiratorios representativos, obteniendo para cada sujeto un total de 6 señales reportadas en la Figura 3.

Para facilitar la estimación del RR, se estimó la amplitud de las señales EMGdi a partir de la entropía muestral utilizando valores de tolerancia fijos (fSampEn) [6], [9] ya que ha demostrado una menor influencia a la actividad cardíaca frente otros métodos de estimación de amplitud, como el ARV o RMS [9]. Para la fSampEn, es necesario definir dos parámetros: m (longitud de los parámetros a comparar) y r (valor de tolerancia). En este estudio se ha utilizado m = 1 y r = 0.3 veces de la desviación estándar [6], [9].

El RR fue estimado a partir de la fSampEn de Biopac y Shimmer (fSampEn_B y fSampEn_S, respectivamente) y de la señal de presión (señal de referencia) mediante la frecuencia pico del espectro obtenido a partir del periodograma de Welch, con una ventana Hamming de 10 segundos y un solapamiento del 50 %.

El HR fue estimado a partir del ECG_B (señal de referencia), ECG_S, EMGdi_B, EMGdi_S, mediante un detector de complejos QRS basado en el algoritmo de Pan-Tompkins [10].

Por último, se evaluó también la amplitud de la fSampEn_B y fSampEn_S en función de la carga (NRD) y se extrajeron

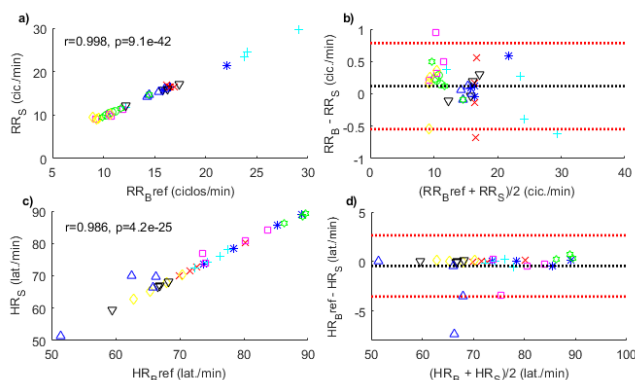


Figura 4. Correlación de Pearson (a) y diagrama de Bland-Altman (b) entre el RR_S y RR_{Bref} obtenidas de cada sujeto. Correlación de Pearson (c) y diagrama de Bland-Altman (d) entre HR_{Bref} y HR_S de cada sujeto.

parámetros representativos del contenido frecuencial de las señales EMGdi: la frecuencia media y la frecuencia central obtenida mediante un análisis del espectro de los segmentos de señal de cada contracción correspondientes al periodo inspiratorio, con el objetivo de evaluar si existe alguna correlación entre estos parámetros y la carga.

2.4. Análisis de datos

Se ha empleado la correlación de Pearson para evaluar la similitud entre los parámetros obtenidos por medio de señales medidas con Biopac y con los obtenidos a partir del dispositivo inalámbrico Shimmer. También se ha completado el estudio con un análisis de Bland-Altman con el objetivo de cualificar el grado de acuerdo entre los distintos parámetros. El objetivo es evaluar si pueden extraerse parámetros de forma fiable a partir de las señales medidas con Shimmer. Por ello se puso especial atención al análisis de la señal EMGdi_S, cuyos valores RR y HR fueron contrastados con los obtenidos a partir de las señales de referencia.

Se realizaron diagramas de Box-Plot para evaluar y comparar la evolución de: valor medio y valor de pico de la fSampEn_B y la fSampEn_S, y el contenido frecuencial de las señales EMGdi_B y EMGdi_S durante cada inspiración, evaluando la frecuencia media y la frecuencia central de cada uno de los cinco ciclos inspiratorios de cada carga.

3. Resultados

En general, se han obtenido niveles de correlación muy fuerte, en los valores de los parámetros computados en los registros obtenidos a partir de Shimmer y Biopac.

En primer lugar, se obtuvo una r de 0.998 y un error medio menor a 1 ciclo/min entre el RR estimado a partir de la señal de EMGdi_S procesada por la fSampEn_S (RR_S) y la señal de presión (RR_{Bref}) (Figura 4).

Por otro lado, se obtuvo una r de 0.986 y un error medio de 2 latidos/min entre el HR estimado a partir de del ECG_B de Biopac (HR_{Bref}) y el estimado a partir de la influencia cardíaca de la señal EMGdi_S registrada con Shimmer (HR_S) (Figura 4).

Se observó una correlación positiva entre la carga y los valores de amplitud de la fSampEn_S (r = 0.546 para el valor de pico; r = 0.575 para el valor medio), mayor frente a la

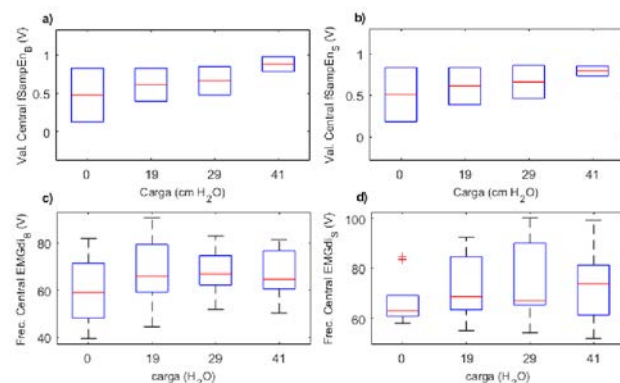


Figura 5. Diagrama de Box-Plot del valor central de la amplitud de la fSampEn_B (a) y fSampEn_S (b). Diagrama de Box-Plot de la frecuencia media de las contracciones de la EMGdi_B (c) y EMGdi_S (d) en cada carga inspiratoria.

hallada a partir de los valores de amplitud de la $f_{SampEnB}$ ($r = 0.38$, $r = 0.399$, respectivamente), aunque en ambos casos se puede afirmar que, a mayor carga aplicada, mayor es la amplitud y por lo tanto el NRD aumenta.

La frecuencia media de cada contracción en el EMG_{diB} presenta una mejor correlación ($r = 0.839$) que en EMG_{diS} ($r = 0.224$). En cuanto a la frecuencia central, en ambos casos se obtiene una correlación débil ($r = 0.316$ con Biopac, $r = 0.230$ con Shimmer), lo que demuestra un aumento de frecuencia ante un incremento de carga, reflejando una evolución incremental de la fatiga muscular.

4. Conclusiones y discusión

La tecnología inalámbrica (sin cables) es uno de los campos en mayor desarrollo de la Ingeniería Biomédica [11], y ofrece un gran potencial en la asistencia clínico-deportiva, ya que permite el registro de parámetros fisiológicos en contextos más reales más allá de los laboratorios: son portátiles, ligeros, multimodales, seguros y consumen poca energía. En este estudio se ha podido extraer con una elevada precisión dos parámetros vitales como son el RR y el HR, puesto que presentan una correlación muy fuerte y un error medio pequeño frente a los obtenidos mediante sistemas de adquisición de referencia. En un estudio similar también se ha obtenido una alta correlación entre parámetros obtenidos a partir de señales registradas con Shimmer y Biopac [4], aunque sólo se hicieron registros a un sujeto. Se especula que las posibles discrepancias encontradas son debidas a las condiciones en la metodología de adquisición de cada señal y no a las diferencias entre los equipos.

Además, se ha observado un aumento en la amplitud y frecuencia ante un aumento de carga. Esta alta correlación entre la presión en boca y el NRD, también se observó en Estrada et al. [6], y podría significar la medida indirecta del esfuerzo muscular respiratorio. Así mismo, el contenido frecuencial del EMG_{di} nos ofrece información sobre la fatiga muscular del diafragma. En conclusión, Shimmer como dispositivo inalámbrico, es una buena alternativa para la medida de la actividad del músculo respiratorio (EMG_{di}), de la cual pueden extraerse información y varios parámetros fisiológicos de forma precisa, en sujetos sanos. Shimmer es robusto, y ofrece herramientas versátiles para optimizar adquisiciones de alta calidad científica y ser adaptadas por la institución según el área de investigación, ofreciendo así la creación de nuevas soluciones.

Estudios futuros pueden evaluar otras vías de registro, como la transmisión directa de las señales EMG_{di} registradas vía Bluetooth a un dispositivo móvil o a un ordenador portátil. La tecnología inalámbrica, que está en constante desarrollo, ofrece un gran potencial para el desarrollo de dispositivos para el registro de señales biomédicas de alta calidad.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado en parte por la Secretaria de Universidades e Investigación del Departamento de Economía y Conocimiento del Gobierno de Cataluña (Grupo de Investigación Consolidado GRC 2014 GR 1596)

y por el Ministerio de Economía y Competitividad, ref. DPI2015-68820-R (MINECO/FEDER). Luis Estrada ha sido financiado por parte del Instituto para la Formación y Aprovechamiento de Recursos Humanos y de la Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (Programa IFARHU-SENACYT, beca 270-2012-27).

Referencias

- [1] Burns A, Greene B, McGrath M, O'Shea T, Kuris B, Ayer S y otros. SHIMMER™ – A Wireless Sensor Platform for Noninvasive Biomedical Research, *IEEE Sensors J.*, vol. 10, n.º 9, 2010, pp. 1527-1534.
- [2] Biswas D, Cranny A, Gupta N, Maharatna K, Achner J, Klemke J y otros. Recognizing upper limb movements with wrist worn inertial sensors using k-means clustering classification, *Human Movement Science*, vol. 40, 2015, pp. 59-76.
- [3] Donovan KJ. SHIMMER: A new tool for temporal gait analysis. In *Proceedings of the 31st Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society: Engineering the Future of Biomedicine*, EMBC 2009. pp. 3826-3829.
- [4] Estrada L, Torres A, Sarlabous L, R Jané. Evaluating respiratory muscle activity using a wireless sensor platform. *2016 38th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, Orlando, FL, USA, 2016, pp. 5769-5772.
- [5] Ritcher R. Real-time ECG and EMG analysis for biking using android-based mobile devices. *Proceedings 11th International Conference on Wearable and Implantable Body Sensor Networks*, BSN 2014, pp.104-108.
- [6] Estrada L, Torres A, Sarlabous L, Jane R. Improvement in Neural Respiratory Drive Estimation From Diaphragm Electromyographic Signals Using Fixed Sample Entropy. *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics*, vol. 20, n.º 2, 2016, pp. 476-485.
- [7] Johnson P, Cowley A, Kinnear W. Evaluation of the THRESHOLD® trainer for inspiratory muscle endurance training: comparison with the weighted plunger method. *European Respiratory Journal*, vol. 9, n.º 12, 1996, pp. 2681-2684.
- [8] Estrada L, Torres A, Sarlabous L, Jané R. EMG-derived respiration signal using the fixed sample entropy during an Inspiratory load protocol. *Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBS, 2015-November*, pp.1703-1706.
- [9] Sarlabous L, Torres A, Fiz J, Jané R. Evidence towards Improved Estimation of Respiratory Muscle Effort from Diaphragm Mechanomyographic Signals with Cardiac Vibration Interference Using Sample Entropy with Fixed Tolerance Values. *PLoS ONE*, vol. 9, n.º 2, 2014, p. e88902.
- [10] Pan J, Tompkins W. A Real-Time QRS Detection Algorithm. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. BME-32, n.º 3, 1985, pp. 230-236.
- [11] Mukhopadhyay S. Wearable Sensors for Human Activity Monitoring: A Review. *IEEE Sensors J.*, vol. 15, n.º 3, 2014, pp. 1321-1330.

Miscelánea

Jueves 24 de Noviembre

Efecto en la clasificación de imaginación motora a partir del EEG al aplicar tDCS en la corteza motora y el cerebelo

I. N. Angulo Sherman¹, M. Rodríguez Ugarte², E. Iáñez Martínez², J. M. Azorín Poveda²

¹ Unidad Monterrey, CINVESTAV, Apodaca, N.L., México, iangulo@cinvestav.mx

² BMI Systems Lab, Universidad Miguel Hernández, Elche, España, {maria.rodriquezu, eianez, jm.azorin}@umh.es

Resumen

La estimulación transcraneal con corriente directa (tDCS) es un método de estimulación cerebral donde se provee corriente y que tiene potencial para usarse en neurorehabilitación motriz al modular la excitabilidad de las vías motoras. Puesto que el cerebelo ejerce control sobre la corteza motora, estimularlo junto a otras zonas cerebrales asociadas al movimiento podría mejorar la imaginación de realizar un movimiento. En este trabajo, se evalúa la exactitud de la clasificación del electroencefalograma entre un estado de reposo o imaginar mover la mano derecha o los pies, usando distintas intensidades de corriente y tiempos de estimulación en áreas corticales asociadas a dichos movimientos y el cerebelo. Nuestros resultados sugieren que el montaje propuesto puede mejorar la clasificación entre el movimiento imaginado y reposo, pero la densidad de corriente óptima depende del tipo de movimiento y la modalidad de estimulación.

1. Introducción

La estimulación transcraneal con corriente directa (tDCS, por sus siglas en inglés) es un método no invasivo de estimulación cerebral donde se provee corriente a través de dos o más electrodos con el fin de modular temporalmente la excitabilidad cerebral [1, 2]. Esta técnica ha mostrado potencial para aplicarse en la neurorehabilitación de quienes han sufrido un ictus al poder mejorar el desempeño y aprendizaje motriz [1]. Sin embargo, los efectos de la tDCS son variables, en función de factores como la intensidad de corriente. Además, es necesario considerar que los resultados de la tDCS para neurorehabilitación son producto de afectar distintas redes cerebrales involucradas en la atención, el movimiento, etc. En el caso del movimiento, esta red incluye los ganglios y las áreas premotora, motora y motora suplementaria (AMS), así como el cerebelo [2], el cual participa en la adaptación y aprendizaje motores. Una porción del cerebelo, el cerebros cerebelo, tiene conexiones aferentes y eferentes con la corteza cerebral, por lo que estimular dicha zona altera el control del cerebelo sobre la corteza motora [3]. Por este motivo, la estimulación cerebelar con tDCS podría contribuir a la neuroplasticidad.

La práctica mental de una tarea específica comparte partes de la red neural usada para realizar dicha tarea [2]. De esta manera, como reflejo de la actividad sensorimotora, tanto imaginar hacer un movimiento como efectuarlo atenúan la potencia de las bandas μ (8-13 Hz) y β (14-26 Hz). Por ello, la imaginación de realizar movimientos específicos se incluye en algunos estudios de neurorehabilitación [4].

Este trabajo presenta resultados de la evaluación preliminar de un montaje para estimular el área motora de mano derecha o pies y el cerebelo. Para ello, se midió el efecto de distintas densidades de corriente en la clasificación de señales de electroencefalografía (EEG) en estado de reposo o imaginar mover ya sea la mano derecha o los pies. El proceso se realizó para tres modalidades de estimulación: aplicar tDCS sobre el área cortical asociada a mover la mano derecha antes del registro de EEG, administrar tDCS en la región relacionada a mover los pies antes de adquirir el EEG, y suministrar tDCS de corta duración al área cortical de la mano derecha o de los pies durante el registro del EEG. Los resultados sugieren que este montaje puede mejorar la clasificación, pero la densidad de corriente óptima depende del movimiento y la modalidad de tDCs.

2. Materiales

Se han usado los equipos de Neuroelectrics® Enobio-32 y Starstim para adquirir el EEG a 500 muestras por segundo en 32 electrodos, basados en el sistema 10/20, y para proveer tDCS, respectivamente. La estimulación se aplicó a través de dos o tres electrodos de 1 cm de radio, dependiendo de la modalidad de tDCS. Éstos se muestran en la Figura 1 junto a los electrodos de EEG. El electrodo 2 se coloca en el punto medio entre Cz y FC1 para estimular el AMS y la corteza motora de los pies. El electrodo 1 se centra detrás de una línea imaginaria trazada de C1 a FC5, alineado con C3 con el fin de estimular el área motora y premotora de la mano derecha y mantener una distancia a C3 comparable con la presente entre el electrodo 2 y Cz. Por último, el electrodo 3 se localiza a la altura del inion, próximo al cerebelo [5], desplazado aproximadamente 3 cm hacia la izquierda.

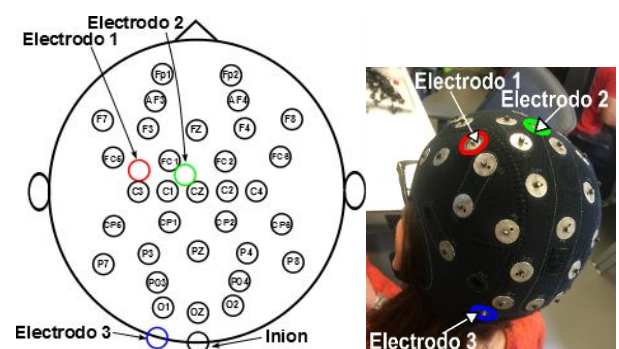


Figura 1. Posición de electrodos de tDCS.

4.1. tDCS previa al EEG en la región cerebral asociada al movimiento de la mano derecha

Primero, se suministra tDCS anodal por 10 minutos, con rampas de 3 s al inicio y al final de la estimulación. El electrodo 1 sirve como ánodo y el electrodo 3 como cátodo. Después se registra el EEG mientras el sujeto mira una pantalla que muestra secuencias de instrucciones: si se deja la pantalla en blanco (4 a 4.5 s), el usuario debe permanecer en reposo, mientras que si se exhibe una flecha apuntando a la derecha o abajo (5 s), el sujeto debe imaginar mover la mano derecha o los pies, respectivamente. En cada sesión se hacen tres series de quince secuencias en orden aleatorio de ambos tipos de movimiento imaginado (mano y pies), con su lapso de reposo correspondiente. Entre series se dan tres minutos de descanso. La Figura 2 muestra el esquema temporal de tDCS y de una serie para esta modalidad.

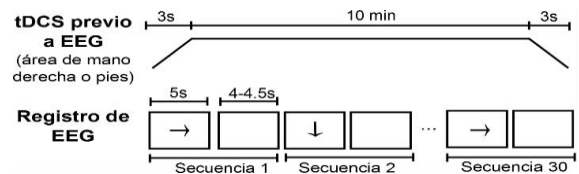


Figura 2. Esquema temporal de estimulación y de una serie cuando se proporciona tDCS previa al registro de EEG.

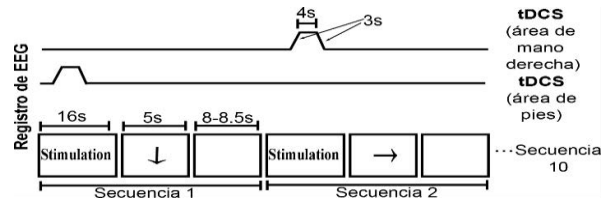


Figura 3. Esquema temporal de la estimulación durante el EEG.

4.2. tDCS previa al EEG en la región cerebral asociada al movimiento de los pies

El protocolo seguido para esta modalidad es el mismo que el de la sección 4, con la diferencia de que el electrodo 2 es usado como el ánodo. De este modo, se estimula la región motora de los pies en lugar de aquella de la mano derecha.

4.3. tDCS durante el EEG en la región cerebral asociada al movimiento de mano derecha o pies

En esta modalidad el sujeto mira una pantalla donde se dan tres posibles señales: la aparición de flechas, de una pantalla en blanco (ambas con el mismo significado que en las modalidades anteriores) o la palabra "Stimulation". Cuando se muestra esta última, el sujeto recibe tDCS anodal en el área motora asociada a la siguiente instrucción visual, que es de imaginar realizar un movimiento. Es decir, antes de mostrar una flecha que apunta a la derecha o abajo, se da tDCS usando el electrodo 3 como cátodo y el electrodo 1 o 2 como ánodo, respectivamente. El tiempo asignado a la estimulación es de 16 s, aunque el pulso de tDCS es de 4 s, con rampa anterior y posterior de 3 s, tal como se indica en la Figura 3. Esto se debe a que la activación del Startim tiene un retardo durante el cual se contamina el EEG, por lo que ese lapso debe descartarse. Además, el tiempo de reposo es 4 s mayor para procurar la recuperación de los efectos de la tDCS. En esta modalidad se registraron nueve series de cinco secuencias de ambos tipos de movimiento imaginado, con su respectivo tiempo de reposo. Se dieron descansos de un minuto entre series.

En cada sesión de una misma modalidad de tDCS se evaluó en orden aleatorio una densidad de corriente: 0 (sham o D0), 0.02 (D1), 0.04 (D2) o 0.06 (D3) mA/cm². De manera similar, las modalidades se presentaron de forma contrabalanceada entre usuarios. En la Figura 4 se muestra el montaje experimental utilizado en este estudio.

Tras obtener el EEG, se calculó para cada sesión el porcentaje de clasificaciones correctas para cada tipo de movimiento imaginado (MI) y el estado de reposo, es decir, la exactitud. Para ello, primero se resta a la señal de C3, Cz y C4 el promedio del EEG de los cuatro electrodos vecinos. Después, se separan los lapsos de EEG de cada tipo de MI y su periodo de reposo. En el caso de la modalidad de la sección 4.3, se omiten los primeros 4 s de reposo. Luego,



Figura 4. Montaje experimental durante el registro de EEG.

se sigue el procedimiento descrito a continuación para ambos tipos de MI. Se calcula el espectro a partir del segundo 2 de los lapsos de MI y reposo y se calcula la distancia máxima de Fisher en 8-30 Hz para ambos estados mentales en los tres electrodos. Entonces, en cada sesión se obtiene una frecuencia para C3, Cz y C4 en la que el MI y el reposo son más discernibles. Este proceso se ilustra en la Figura 5 y se realiza con la finalidad de seleccionar las frecuencias que caracterizan mejor la separabilidad del estado de reposo y de MI al presentar mayor diferencia en su potencia media y menor varianza en el electrodo en cuestión. Luego se realizan 100 iteraciones en las que 30 lapsos aleatorios se catalogan como MI o reposo con un clasificador de análisis discriminante lineal entrenado con la amplitud espectral de los lapsos restantes en la frecuencia característica de los tres electrodos. Finalmente, se calcula el porcentaje de clasificaciones correctas de los 30 fragmentos. Para cada sujeto, las distribuciones de exactitud de las 100 iteraciones de cada sesión se comparan mediante pruebas de análisis de varianza (ANOVA) para comprobar si hay diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.001$) de la exactitud entre densidades de corriente para una modalidad. Cuando se encuentran estas diferencias, se realizan comparaciones múltiples mediante el método de Tukey-Kramer ($p < 0.001$) para determinar qué densidades de corriente tienen diferencias entre sí.

5. Resultados

A continuación se presentan los resultados de la exactitud y el análisis estadístico para cada tipo de estimulación y sujeto. En las Figuras 6-8 se muestra la exactitud para cada tipo de MI, sujeto y modalidad de tDCS, mientras que las Tablas 1-3 muestran las pruebas estadísticas. Los resultados se describen por modalidades de estimulación.

5.1. tDCS previa al EEG en la región cerebral asociada al movimiento de la mano derecha

La Figura 6 y la Tabla 1 muestran los resultados para la estimulación en la región motora de mano derecha antes del registro de EEG. En las gráficas de la Figura 6, cada punto representa la exactitud media de la sesión, mientras que las barras de error indican la desviación estándar de la exactitud en la sesión. En la primera columna de la Tabla 1 se muestra el MI analizado, donde MD denota la mano derecha y P los pies. Por otro lado, en la segunda columna aparece el número de sujeto. En las otras dos columnas se indican el valor *p* de la prueba ANOVA y los resultados de las comparaciones múltiples. Estas comparaciones se interpretan de la siguiente manera: por ejemplo, para el sujeto 1 con MD, D1 y D2 presentan una exactitud menor que D0 y D3. Esto se expresa como D1, D2 < D0, D3. Con base a lo anterior, en la Figura 6 y la Tabla 1 se observa que para esta modalidad, la clasificación de MD tiende a mejorar o mantenerse al estimular con D3 respecto a D0.

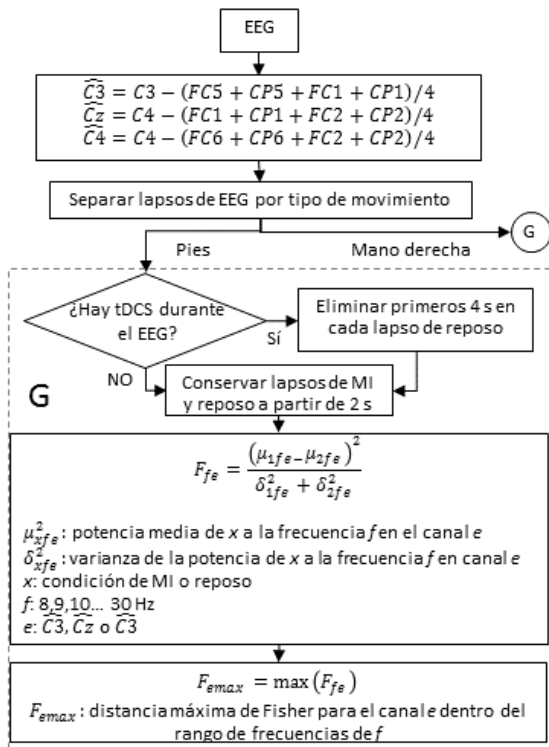


Figura 5. Esquema del procesamiento del EEG para obtener las frecuencias usadas para clasificación.

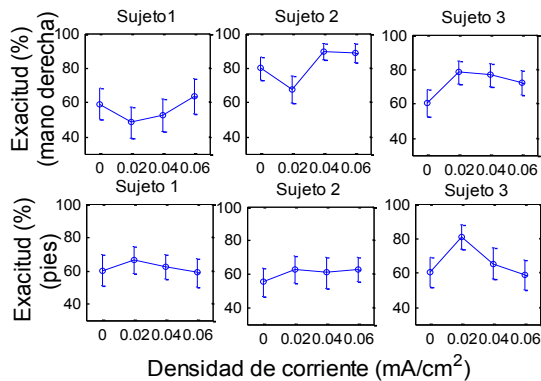


Figura 6. Exactitud para la estimulación previa al EEG en el área de mano derecha.

En el caso de la clasificación de pies, la densidad de corriente que muestra las exactitudes mayores es D1.

5.2. tDCS previa al EEG en la región cerebral asociada al movimiento de los pies

En la Figura 7 y en la Tabla 2 se observa que las densidades D1 y D2 pueden aumentar la exactitud de MD respecto a D0, con resultados variables entre sujetos. En el caso de P, la tDCS no aumenta la exactitud en general e, incluso, puede disminuirla en comparación con D0. Nótese que aunque la tDCS se aplica en el área de los pies, la exactitud de mano derecha es mayor, lo cual es consistente con la menor claridad en la actividad motora de los pies [6] por su ubicación dentro de la fisura longitudinal, a mayor profundidad que la región de las manos.

MI	S	ANOVA (valor p)	Comparaciones múltiples (p<0.001)
MD	1	1.88x10 ⁻¹⁹	D1, D2 < D0, D3
	2	3.69x10 ⁻⁷⁵	D1 < D0 < D2, D3
	3	4.76x10 ⁻⁵²	D0 < D3 < D1, D2
P	1	8.06x10 ⁻¹²	D0, D3 < D1
	2	4.19x10 ⁻²⁷	D0 < D1, D2, D3
	3	2.52x10 ⁻⁶⁸	D0, D3 < D2 < D1

Tabla 1. Pruebas estadísticas para la estimulación previa al EEG en el área de mano derecha.

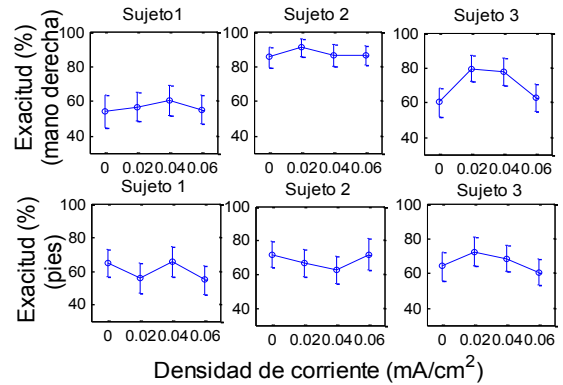


Figura 7. Exactitud para la estimulación previa al EEG en el área de los pies.

MI	S	ANOVA (valor p)	Comparaciones múltiples (p<0.001)
MD	1	5.45x10 ⁻²⁵	D0, D3 < D2
	2	3.67x10 ⁻¹³	D0, D2, D3 < D1
	3	4.80x10 ⁻⁸³	D0, D3 < D1, D2
P	1	5.66x10 ⁻²⁵	D1, D3 < D0, D2
	2	2.23x10 ⁻¹⁴	D1, D2 < D0, D3
	3	6.69x10 ⁻¹⁹	D0, D3 < D1, D2

Tabla 2. Pruebas estadísticas para la estimulación previa al EEG en el área de los pies.

5.3. tDCS durante el EEG en la región cerebral asociada al movimiento de mano derecha o pies

La Figura 8 y la Tabla 3 muestran que ninguna densidad de corriente presenta mayor exactitud de MD o P respecto a D0 para más de un sujeto.

En resumen, no hay mejor clasificación para la tDCS provista durante el registro de EEG, mientras que para las otras dos modalidades hay corrientes que muestran incremento de exactitud para varios voluntarios, dependiendo del tipo de movimiento.

6. Discusión

Los resultados muestran que cuando se dan 10 minutos de tDCS previa a la clasificación, existen algunas tendencias de mantener la exactitud o aumentarla, pero las corrientes con las que esto ocurre varían para el área donde se da la estimulación y para el tipo de movimiento imaginado. Entonces, una misma zona de estimulación puede afectar la exactitud para más de un tipo de movimiento imaginado. Por otro lado, la tDCS de corta duración no muestra beneficio en la exactitud, lo que puede relacionarse a limitaciones del protocolo al estimar el tiempo de recuperación de la tDCS, que es un parámetro desconocido. También, el tiempo por secuencia es mayor en ese esquema, lo que podría afectar los resultados al tener mayor variabilidad en el nivel de la atención del usuario. Cabe mencionar que el tamaño de nuestra muestra es reducido, por lo que es necesario ampliar los resultados con más sujetos. Además, la ubicación del electrodo cercano al cerebelo podría mejorarse con ayuda de tecnologías de imagen o simulaciones de la estimulación.

7. Conclusiones y trabajo futuro

Los resultados preliminares sugieren que el montaje propuesto podría mejorar la clasificación de movimiento imaginado, pero la corriente óptima varía dependiendo del movimiento y la modalidad de estimulación.

Como trabajo futuro, se planea extender los resultados con un número mayor de voluntarios, así como analizar la potencia en los electrodos usados en la clasificación para explicar los resultados de una manera más amplia. Además, se pretende comparar los resultados obtenidos con los de otro montaje que sólo estimule la corteza motora para determinar sus diferencias en el EEG y la exactitud.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada por el Ministerio de Economía y Competitividad (Plan Estatal de I+D+I) y por la Unión Europea a través del Fondo Europeo de Desarrollo Regional-FEDER “Una manera de hacer Europa” como parte del proyecto Associate: Decodificación y Estimulación de actividad cerebral sensorial y motora para permitir potenciación a largo plazo mediante estimulación Hebbiana y estimulación asociativa preada durante la rehabilitación de la marcha (con referencia DPI201-58431-C4-2-R). Se agradece a Neuroelectrics por el préstamo de los equipos Enobio y Starstim para realizar este estudio. Además, se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACyT) por su apoyo a través de una beca mixta.

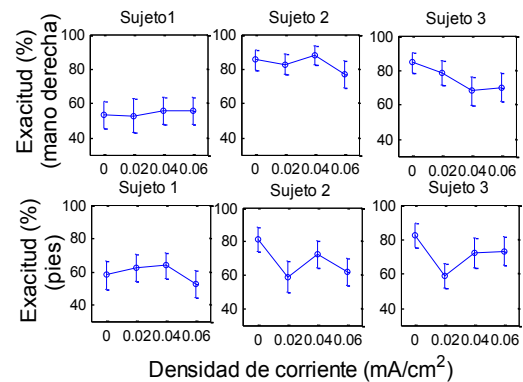


Figura 8. Exactitud para la estimulación durante el EEG en el área de mano derecha o los pies.

MI	S	ANOVA (valor p)	Comparaciones múltiples (p<0.001)
MD	1	0.2338	-
	2	6.73x10 ⁻²⁴	D3 < D0, D1, D2; D1 < D2
	3	1.98x10 ⁻⁶³	D2, D3 < D1 < D0
P	1	1.59x10 ⁻²²	D3 < D0 < D1, D2
	2	5.91x10 ⁻⁵⁵	D1, D3 < D2 < D0
	3	6.83x10 ⁻⁶⁸	D1 < D2, D3 < D0

Tabla 3. Pruebas estadísticas para la estimulación durante el EEG en el área de mano derecha o los pies.

Referencias

- [1] Reis J, Fritsch B. Modulation of motor performance and motor learning by transcranial direct current stimulation. *Current Opinion in Neurology*, vol 4, sup 6, 2011, pp 590-596.
- [2] Foerster Á, Rocha S, Wiesiolek C, Chagas AP, Machado G, Silva E, Monte-Silva K. Site-specific effects of mental practice combined with transcranial direct current stimulation on motor learning. *European Journal of Neuroscience*, vol 37, sup 5, 2013, pp 786-794.
- [3] Priori A, Ciocca M, Parazzini M, Vergari M, Ferrucci R. Transcranial cerebellar direct current stimulation and transcutaneous spinal cord current stimulation as innovative tools for neuroscientists. *The Journal of physiology*, vol 592, sup 16, 2014, pp 3345-3369.
- [4] Ang KK, Guan C, Phua KS, Wang C, Zhao L, Teo WP, Chew E. Facilitating effects of transcranial direct current stimulation on motor imagery brain-computer interface with robotic feedback for stroke rehabilitation. *Archives of physical medicine and rehabilitation*, vol 96, sup 3, pp S79-S87.
- [5] Kaski D, Quadir S, Patel M, Yousif N, Bronstein AM. Enhanced locomotor adaptation aftereffect in the “broken escalator” phenomenon using anodal tDCS. *Journal of neurophysiology*, vol 107, sup 9, 2012, pp 2493-2505.
- [6] Pfurtscheller G, Brunner C, Schlögl A, Da Silva FL. Mu rhythm (de) synchronization and EEG single-trial classification of different motor imagery tasks. *Neuroimage*, vol 31, sup 1, pp 153-159.

Design of a Dynamic Spinal Implant for the treatment of Early Onset Scoliosis

A. González Álvarez, D. Shepherd, K. Dearn

Department of Mechanical Engineering, University of Birmingham, United Kingdom

Summary

GSDyn (Growing Spine Dynamic) is a novel implant that has been designed and manufactured to mechanically correct three dimensional spinal deformities in children with Early Onset Scoliosis (EOS). The innovative element of the implant is the lengthening mechanism that allows the elongation surgeries to be easier, faster and less invasive procedures than with other mechanical implants on the market, as they can be performed under local anaesthetics and with a surgical incision of less than one centimetre. It also includes a dynamic system to prevent implant breakage and anchor loosening, two of the most common complications occurring in this treatment. The development of the implant has been guided by spinal surgeons. Finite Element Analysis has been performed to evaluate the behaviour of the device under different loading conditions and two working prototypes have been successfully manufactured.

1. Introduction

Early-onset scoliosis (abnormal twisting and curvature of the spine) is defined as a severe form of the disorder diagnosed at the age of five years or less [2]. After diagnosis, patients are treated to prevent progression of the deformity producing chest cavity anomalies and consequently abnormal lung formation, evolving into pulmonary failure [2]. As alveolar development continues until puberty, the challenge is to preserve the growth potential of the spine and lungs by delaying the undertaking of fusion treatment, the gold standard to correct scoliosis. The fusion treatment effectively turns the spine into a rigid straight construction, inhibiting any mobility between vertebrae and, in consequence, preventing any spinal growth. The development of new implant technologies offers an alternative for young patients, the most widespread treatments being the use of growing rods and distraction-based techniques [2]. However, the frequency with which complications arise from the use of these implants is very high, as are the costs involved.

Growing rods are extendable devices that are inserted through the back of the child in the concavity of the curved spine. They can be anchored to the ribs and/or vertebrae by way of hooks and/or screws. Different constructions are possible depending on the curvature of the patient. After implantation, every six months a lengthening surgery is required in order to elongate the device and gradually correct the curvature while guiding spinal growth. Biomechanically speaking, the scoliotic spine is under axial load (the weight and movements of the patient) and during lengthening surgeries the implant

applies a force to the upper and lower extremities of the spinal curvature to straighten it.

After several elongation surgeries, the spine grows and straightens gradually. In each lengthening surgery the length of elongation is usually less than 1 cm as it is tried to follow the normal growth of the child over the time. At the end of the treatment (when the child stops growing) the device is taken out and if there is still some deformity, spinal fusion is performed.

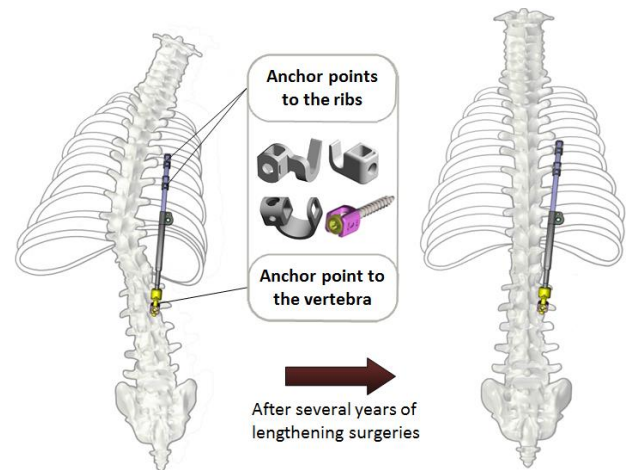


Figure 1. Scoliotic spine with growing rod inserted on the left and straight spine after several elongation surgeries on the right. Different anchor points can be seen in the middle.

2. Design requirements

The design requirements were formulated in accordance with ISO 14708-1:2014. The implant enhancement should:

- Allow 6 cm of elongation.
- Include a rod with a maximum diameter of 5mm.
- Provide mechanical distraction performed by the surgeon and a surgical tool.
- Provide minimal invasive surgery for distraction. The smaller the surgical incision the better.
- Be able to withstand the loads of a 40 kg patient.
- Be elongated always from the same point so that the opening position for surgery is known.
- Be able to connect to ribs and/or spine.
- Be single use. Therefore, sterilization will only be performed by the manufacturer.

- Be able to be bent in case of extreme kyphotic curvatures.

The main design consideration is that the device should be able to mechanically correct three dimensional spinal deformities in skeletally immature patients by providing an implant that is as small as possible.

3. Design development

After careful consideration of the design requirements as well as a detailed study of the biomechanics of scoliosis, a few proposals were created and one was selected as a solution for development. The GSDyn implant is composed of a rack-rod and pinion system that allows repetitive distraction under local anaesthetics with a surgical incision of less than one centimetre. This elongation mechanism allows easier, faster and less invasive lengthening procedures than other mechanical implants on the market. It can be anchored simultaneously to the ribs and/ or using a combination of hooking points and pedicle screws, allowing for different anchoring configurations.

A first working prototype with a straight rod was manufactured in stainless steel by traditional machining (Figure 12). Regular meetings with spinal surgeons from the Rizzoli Orthopaedic Institute in Bologna, Italy, guided further development of the device. In consequence, a second prototype with a curved rod and reduced dimensions was manufactured by additive manufacturing in Titanium powder (Figure 13) as well as different anchoring points for the ribs and for the spine (Figure 2). The white parts in figure 2 are ABS rib hooks made by additive manufacturing. The metallic hook and screws were provided by S14 Implants, the company with which this research is developed.



Figure 2. Prototypes of rib hooks, spinal hooks and screws to assemble to the GSDyn.

Finite Element Analysis (FEA) was performed to validate and optimize the geometry before manufacturing the final prototype for mechanical testing.

4. Stress distribution analysis.

The stress distribution of the device was investigated with Simlab 14.2 Software (Altair Hyperworks 14.0) by performing non-linear static analyses of the implant extended at its maximum (worst case scenario). In order to simulate the environment of the device in situ during

the life of patients, different loading conditions and implant constructions were analysed:

- As the device is intended to correct deformity in 3 dimensions, forces from different angles were applied: axial forces in the z axis for kyphotic deformities (curvatures in the sagittal plane of the patient) and 30 degree oblique forces for scoliotic deformities in the frontal plane.
- Patient's loads are transmitted to the implant through the anchoring points. Therefore, forces were applied to the rack at different segments where the rib hooks would be assembled. Depending on the number of hooks implanted the construction varies in stiffness [2]. Hence, three scenarios were compared by using one, two or three hooking points.

The 3D CAD model from Solidworks was imported and meshed in Simlab with 124760 tetra elements. All the parts had an element size ranging from 0.2 to 0.8.

All components were designed to be Titanium alloy grade 5 (considered to be isotropic, homogeneous and linearly elastic) with an elastic modulus of 110GPa and a Poisson's ratio of 0.33[2]. The bottom part of the implant was fully constrained to simulate the attachment of the screw to the spine. To represent the rib hooks, the displacement in y axis is restricted in some opposite nodes to the surface where the static force is applied. Equivalence set up for the constraints with lateral forces but the restricted displacement is in x axis.

The results of the Von Mises stress are displayed with a contour range from 0 to 400N to account for a security factor of 2.

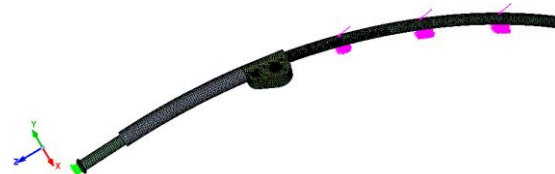


Figure 3. Finite element model of the GSDyn with 3 rib hooks and hence 3 static forces simulating kyphotic curvatures in the sagittal plane of the patient.



Figure 4. Finite element model of the GSDyn with 2 rib hooks and hence 2 lateral static forces simulating scoliotic curvatures in the frontal plane of the patient.

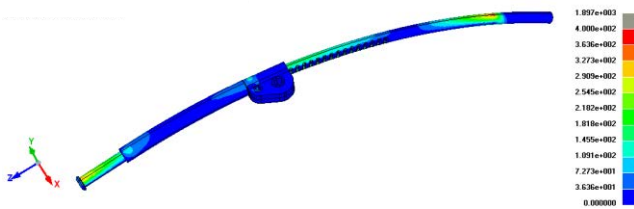


Figure 5. Von Mises Stress distribution of GSDyn when applying 1 Force of 200N in z axis. Maximum Von Mises stress: 1897MPa.

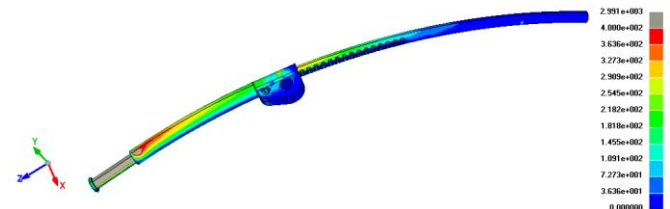


Figure 10. Von Mises Stress distribution of GSDyn when applying 3 lateral forces of 60N in x, 20N in y and 20N in z axis. Maximum Von Mises stress: 2991MPa

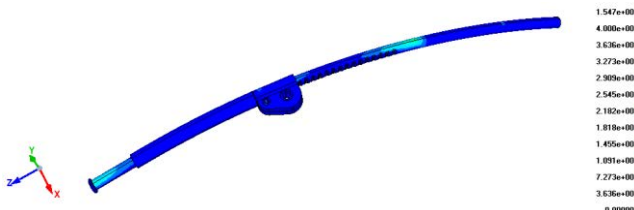


Figure 6. Von Mises Stress distribution of GSDyn when applying 2 Forces of 100N in z axis. Maximum Von Mises stress: 1547MPa

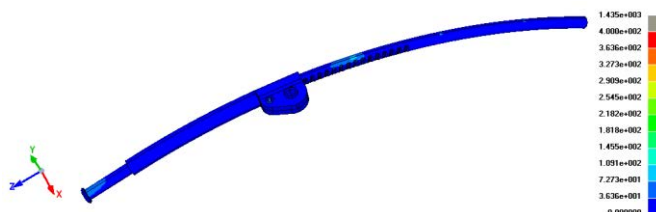


Figure 7. Von Mises Stress distribution of GSDyn when applying 3 Forces of 66N in z axis. Maximum Von Mises stress: 1535MPa

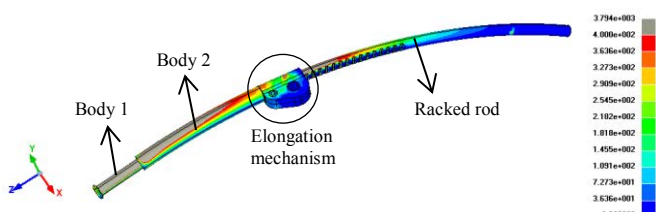


Figure 8. Von Mises Stress distribution of GSDyn when applying 1 lateral force of 179N in x, 80N in y and 80N in z axis. Maximum Von Mises stress: 3794MPa

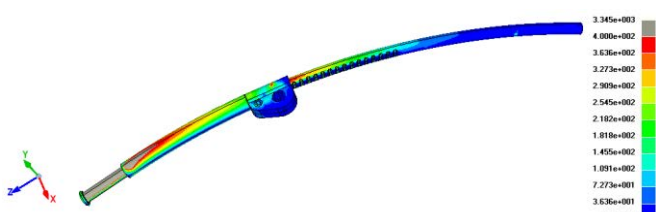


Figure 9. Von Mises Stress distribution of GSDyn when applying 2 lateral forces of 85N in x, 40N in y and 40N in z axis. Maximum Von Mises stress: 3345MPa

The results are presented in Von Mises stresses to quickly determine the most dangerous areas in the model. The highest Von Mises stresses were found when the implant withstands lateral forces from scoliotic curvatures in the frontal plane of the patient. The maximum stress (3794MPa) is located in the racked rod component, at the contact area with a locking part when using a single rib hook (See figure 8). However, other parts of the implant are also subjected to high stresses like the body 1 with a maximum of 1591 Mpa and the body 2 with 2010Mpa.

Regarding the simulation for kyphotic curvatures, the stresses were considerably lower with a maximum Von Mises stress of 1897 MPa (figure 5) in a component of the elongation mechanism. None of the other implant parts were withstanding stresses higher than 842MPa.

Regarding the optimal number of hooking points to use to avoid implant breakage, both scenarios of kyphotic and scoliotic curvatures demonstrated that the best construction was with 3 hooks, followed by 2 and being the worst case the single hooking point.

The results of the whole stress distribution analysis suggest that further design modifications of the device are needed, especially when lateral forces are applied to the implant.

5. Redesign changes with TRIZ method.

TRIZ is the theory of inventive problem solving, a powerful methodology that can be used to generate innovative solutions.

The greatest challenge when redesigning the implant was trying to improve mechanical compliance and keep meeting dimension requirements. In terms of TRIZ, this can be seen as a technical contradiction because a small and strong implant is required but the smaller the implant the less strength it provides. The 40 inventive principles is one of the most valuable tools TRIZ offers and it was applied to redesign the implant to reduce Von Mises stresses in the most critical parts. After going through the 40 principles, two of them were found to be very useful. As a result of principle 15 (Dynamics) combined with the 11, (Beforehand cushioning), the authors came up with the idea of adding a dynamic system to the bottom of the implant close to the screw attachment in order to give some flexibility to the construction and avoid implant breakage and anchor loosening, the most common complications occurring in this treatment [2].

The Dynamic System:

The dynamic system has been included with two elastomeric components inside, a ring made of polycarbonate urethane (PCU) and a silicone core. The device can rotate around its axis and can withstand axial loads (until 1 mm of displacement for traction and 2mm for compression) (Figure 11).

This is the first growing rod offering a dynamic system to prevent mechanical complications. It is expected that it will provide very promising improvements to the treatment of EOS. This will be evaluated when performing mechanical testing of the entire device with the dynamic system included.

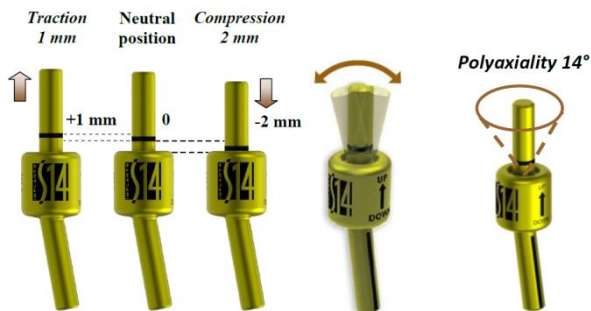


Figure 11. Dynamic system motion range.



Figure 12. First prototype of the GSDyn with the dynamic system assembled.



Figure 13. Second prototype of the GSDyn with the dynamic system assembled.



Figure 14. First prototype of GSDyn device assembled to a 5 year old scoliotic spine replica.

6. Regulatory process for medical devices.

The regulatory process for medical devices is complex. Briefly, it starts by classifying your medical device. GSDyn is a Class IIb device so it needs to meet the requirements in the Medical Devices Directive (MDD) by carrying out a conformity assessment. This includes implementing a Quality Management System (QMS) applying the ISO 13485. For that, a technical file providing information on the medical device (a clinical study should be included) needs to be prepared and the QMS and technical file must be audited by a notified body, a third party accredited by European authorities to audit medical device products. If the process is successful, the device would be CE marked and ISO 13485 certified and therefore safe for use.

7. Conclusion

With a full understanding of the biomechanics of scoliosis a high performance growing rod implant has been designed, mechanically evaluated with FEA and manufactured. Its performance will be fully evaluated soon after undertaking mechanical tests according to the ASTM F1717 Standard. With promising results, a clinical study will be started at the end of 2017.

Acknowledgements

The authors would like to thank S14 Implants company for making this project a reality. This research was supported by the European Commission under the 7th Framework Programme.

References

- [1] Dickson RA. Conservative treatment for idiopathic scoliosis. *J Bone Joint Surg Br.*1985;67:176-81.
- [2] Cunin, V. (2015). Early-onset scoliosis – Current treatment. *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research*, 101(1), S109–S118.
- [3] Akbarnia BA. Management themes in early onset scoliosis. *J Bone Joint Surg Am* 2007;89(suppl 1):42e54.
- [4] Akbarnia, et al. (2014). Biomechanical Evaluation of 4 Different Foundation Constructs Commonly Used in Growing Spine Surgery: Are Rib Anchors Comparable to Spine Anchors? *Spine Deformity*, 2(6), 437–443.
- [5] Bess, et al. (2010). Complications of Growing rod. *The Journal of Bone and Joint Surgery (American)*, 92(15), 2533–2543
- [6] Geramy, A.,Morgano, SM., 2004. Finite Element analysis of 3 designs of an implant- supported molar crown. *The journal of Prosthetic Dentistry* 92, 434-440

Design and Implementation of a Bio-printer for Cardiac Structures

L. Bravo¹, D. Velasco^{2,3}, F. Atienza⁴, F. Fernández-Avilés⁴, A.M. Climent⁴, A. Liberos^{2,4}

¹ Biomedical Engineering, Universidad Carlos III de Madrid, Madrid, Spain, 100305212@uc3m.es

² Department of Bioengineering and Space Engineering, Universidad Carlos III de Madrid, Madrid, Spain, aliberos,divelasc@ing.uc3m.es

³ Instituto de Investigación Sanitaria de la Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain

⁴ Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, Spain

Summary

Bio-printing has proven to be an excellent tool for the recently established field of Tissue Engineering and Regenerative Medicine (TERM) as it blends both principles of engineering and the life sciences to develop biological substitutes that restore or improve tissue function. The purpose of this work was to implement this new state of the art technology in the Laboratory of Organs and Bioartificial Matrices of the Gregorio Marañón Hospital, so as to aid in current research lines as well as open new fields of study. To do so, a commercial 3D Printer has been adapted following extrusion principles through a pressure driven mechanism. Cellular viability and geometrical fidelity have been assessed as the main parameters with which to determine the functional validity of the implemented technology.

1. Introduction

Tissue Engineering can be defined as a means of persuading the body to heal itself through the delivery (independently or in synergy) of cells, biomolecules and surrounding structures [1]. With this promising projection, tissue engineering technologies have recently embarked upon an even more challenging endeavour; to truncate the shortfall between the demand and availability of organs for transplantation. An average of 22 people die each day waiting for transplants [2], numbers which as of 2015, had never been greater and are predicted to worsen considering the increasing life expectancy predictions. Moreover, infection, rejection and disease that can result as a consequence of organ transplantation, fuel too the need for engineered tissue constructs and organs.

Bio-printing consists in the engineering of three dimensional living structures supported by the self-assembling capabilities of cells. Cells are delivered through rapid prototyping and additive manufacturing techniques where complex three dimensional objects are produced as a result of the additive layering of a substrate. These technologies have evolved at a high pace since 2002 as it allows for the three dimensional reproduction of complex microarchitecture and so recapitulates biological function reliably. Moreover, geometries created are patient specific, offering a precise control over the internal architecture at high speeds given its automation. Finally, great clinical projection is envisioned too due to the use of autologous cells where host acceptance is secured as possible immunogenicity issues are prevented. These set of

advantages have led both, the scientific community and medical field to eagerly embrace this technology. Hydrogels (bio-inks), recapitulate features of the natural extracellular matrix and allow cell encapsulation in a highly hydrated and mechanically supportive 3D environment which, can even be tailored to include biologically relevant cues. Moreover, through encapsulation, homogenous and efficient cell seeding is achieved and highly malleable structures can be produced with well defined geometries [3-4].

Hydrogels required for bio-printing purposes have to fulfil characteristics where opposing requirements are confronted: For an optimal printability, high structural fidelity (achieved mainly by a high crosslinking density and a quick polymerization reaction) is sought whereas cell viability requires of a less restrictive/dense environment so as to allow for cellular migration and nutrient diffusion. Aiding in this quest for the optimal hydrogel, shear thinning properties of certain materials have been found to help safeguard cells in extrusion mechanisms, palliating the shear stress generated as a result of extensional flow [5]. This decrease in viscosity when exposed to higher strain rates also allows for the use of higher viscous materials improving the resolution of the printed construct.

In this work, we will describe the implementation of a bio-printer, based in a commercial 3D Printer which will be adapted by using a pressure-driven microsyringe used to extrude the cells. Different hydrogels (bio-inks) will be chosen to evaluate differences in shape fidelity and cell viability based in characteristics such as viscosity and shear thinning properties. Finally, in order to account for the variability of hydrogel constructs, needle radius and other externalities; an interface has been created with which to allow for the necessary changes in machine settings with changing conditions.

2. Materials and Methods

2.1. Cell lines

A key feature of bio-printing is that the deposition process must be cytocompatible as it requires the dispensing of cells. Following the laboratory's line of investigation, in this project, the cells used have been HL-1 cells. HL-1 is a cardiac muscle cell line extensively characterized due to its ability to contract and retain other phenotypic

characteristics of adult cardiomyocytes. It is derived from AT-1 mouse atrial cardiomyocyte's tumor lineage adding value to its benefits for in-vitro studies due to its high proliferation rate.

2.2. Bio-printer parts and construction

We can decompose a bio-printer into what is common between them all, additive manufacturing and rapid prototyping techniques (3D Printing) and what allows them to deposit cells (cell compatible deposition approaches) where different mechanisms exist. As a means of bridging both technologies hydrogels are required.

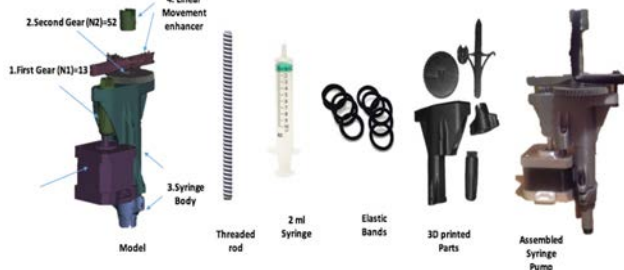


Figure 1. Cellular deposition mechanism adopted based on the design found in [6]. It consists of a reduction system of gears and screws that transforms rotatory motion given by the stepper motor into linear displacement. The threaded rod's displacement dictates the final volume dispensed by the syringe.

The bio-printer construction was based on a commercial 3D Printer by BQ, the Prusa i3 Hephestos. The printing softwares used were open source and consisted of Slic3r and Repetier Host as Computer Assisted Manufacturer (CAM) and printer communicator programs respectively.

Once the printer was constructed, calibrated and tested to print plastic, a pressure-driven microsyringe was chosen as the most suitable option for the extrusion of cellular constructs. The syringe pump was designed according to [6] and its 6 different parts were 3D printed with PLA. This syringe pump, offers a precise control of the extruded volume with high resolution parameters (6 μ l) and has proven to give excellent viability and shape fidelity performances [6]. The extrusion system consists in the production of linear movement a syringe pump requires through the rotatory motion given by the stepper motor through a system of gears and screws. The design was 3D printed, assembled (Figure 1) and integrated. As in the case of the printer's extruder, this syringe is driven by NEMA 17 stepper motors, facilitating the implementation.

2.3. Hydrogels

To evaluate the performance of the bio-printer two hydrogels with different features were chosen: Plasma derived fibrin and alginate gels. Fresh frozen human plasma was provided by a local blood bank (Banco de Sangre del Centro Comunitario de Transfusión del Principado de Asturias (CCST) Spain) and was obtained according to the standards of the American Association of Blood Banks [7]. Alginate (Tradissimo) was studied at different concentrations (1%, 2%, 4% w/v) so as to determine the optimum support structure for the cells. The gels were

extruded through the syringe pump and the crosslinking agent, $CaCl_2$, was then added to the final printed construct setting the final geometry in place.

Viscosity, polymerization rate, cytotoxicity and shape fidelity were studied as the main properties to evaluate in both alginate and plasma derived fibrin gels.

Rheological analysis on the compounds was performed with a Kinexus Pro Rotational Rheometer (Malvern Instruments Ltd., Worcestershire, UK) equipped with a cone and plate geometry (4° cone angle, 40 mm diameter). The Oswald de Waele or power law model ($\sigma = K\dot{\gamma}^n$) was used to describe the shear rate effect on apparent viscosity values of the samples. Time of gelification was experimentally assessed. Cytotoxicity was determined through alamarBlue® reagent test. Finally shape fidelity and integrity was performed through geometrical comparisons between three dimensional design and printed construct.

2.4. Bio-printer software adaptation

Precise rotation of the stepper motors is given as a result of gcode instructions inserted through a printer communicator program (Repetier Host) and interpreted through an OpenSource Marlin firmware. This firmware required of adaptation to the new physical extrusion system adopted. This adaptation consisted of a new calibration unit where both experimentally and theoretically, the number of steps per required volume was calculated. An arduino simplified model of the Prusa i3 Hephesto's electronics for a single motor was specifically created for this purpose.

In order to insert the specific calibration of our bio-printer and adapt, in this way, the geometry to print to the physical requirements of the cell deposition mechanism, a Matlab interface was designed. This Matlab interface (Figure 2) modifies the gcode instructions given by Slic3r, the CAM used as seen in the diagram depicting the bio-printing process 'workflow' (Figure 3). Slic3r is an accessible-online program able to integrate the three dimensional Computer Assisted Design (CAD) with the physical requirements given by the 3D Printer and translate them into computer instructions (G-code).

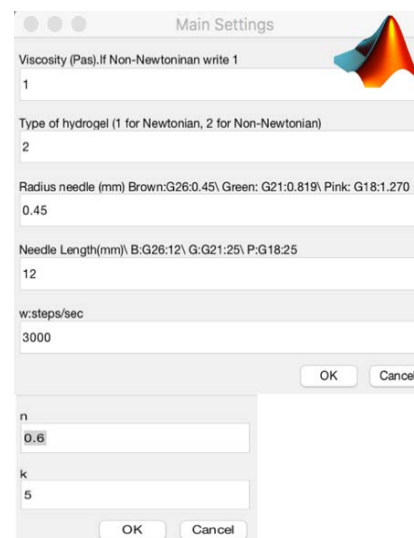


Figure 2. Matlab interface

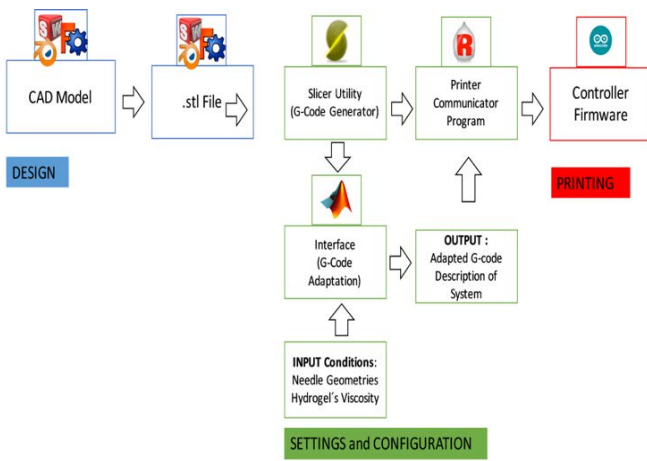


Figure 3. Workflow of bio-printing process, from a 3D design to motion instructions (gcode) that guide the dispensing mechanism. These instructions have been adapted through the settings and configurations introduced through the MATLAB software that mimic external physical characteristics. The characteristics accounted for can be seen in Figure 2.

3. Results

3.1. Rheological studies

Alginate proved to follow Non-Newtonian behaviour with increasing concentration as shown through its power law fitting parameters estimation (Table 1). K (Pa s) is the consistency coefficient and describes viscosity values whereas n is the adimensional flow behaviour index where values different than 1 describe a Non-Newtonian behaviour. In this case, alginate as described in previous studies [3-6] is a shear thinning material. Shear thinning characteristics and viscosity are increased with increased concentration.

	K (Pa s)	n
1%	0.8009	0.8289.
2%	6.526	0.7195
4%	75.442	0.4221

Table 1. Power law parameters

Plasma derived fibrin gels were found to have a similar viscosity and flow behavior as that of water and could not have its concentration and viscosity tailored due to fixed fibrinogen concentration.

3.2. Cytotoxicity

The results of the alamarBlue® reagent test (Figure 4) follow that expected as fibrin gels show a higher reduction percentage than those seen in alginate embedded cells. Plasma derived fibrin gels count with cell adhesion proteins favouring cellular proliferation [7]. On the other hand alginate is bioinert [3-5]. 4% alginate was the gel studied as it proved to be the more viscous and so gave optimal shape integrity after print.

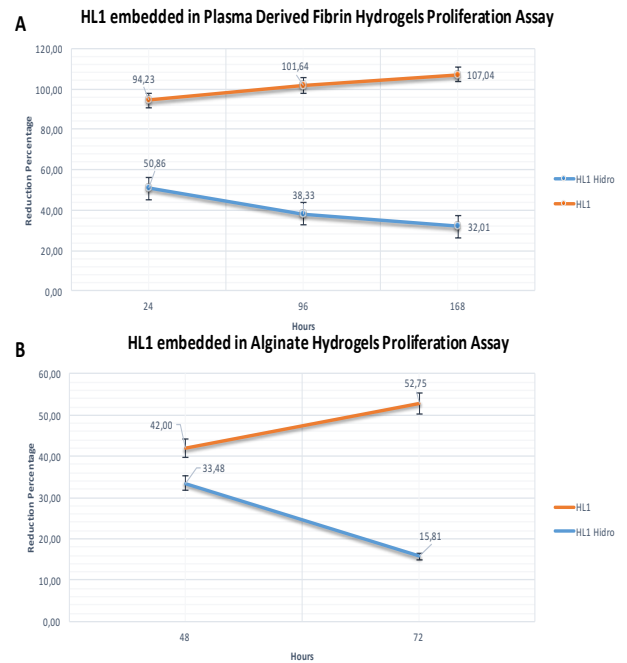


Figure 4. Proliferation Assay as determined by Alamar Blue reagent reduction percentage. A. HL-1 embedded in fibrin gels B. HL-1 embedded in 4% Alginate gels

3.3. Bio-printer performance

Bio-printer's construction culminated with the integration of both the 3D Printer and the cell dispensing mechanism as seen below in Figure 5. This was achieved through the substitution of the hotend extruder of the Prusa i3 Hephastos with the syringe pump assembled (Figure 1). In this way, we have produced a technology able to achieve precise motion in the 3-axis as controlled by 4 stepper motors (1 in the X and Y axis and 2 for the Z). Extrusion is dictated through the dispensing syringe pump controlled by an extra stepper motor.



Figure 5. Functional Bio-printer resulting from the integration of the mounted 3D printer Prusa i3 Hephastos with the previously assembled syringe pump (Figure 1) embedded in the X-axis.

As seen in Figure 6, geometry after printing was compared to the three dimensional design. Alginate 4% was the only

one proven to sustain a structural integrity that validated the Bio-printer's behaviour.

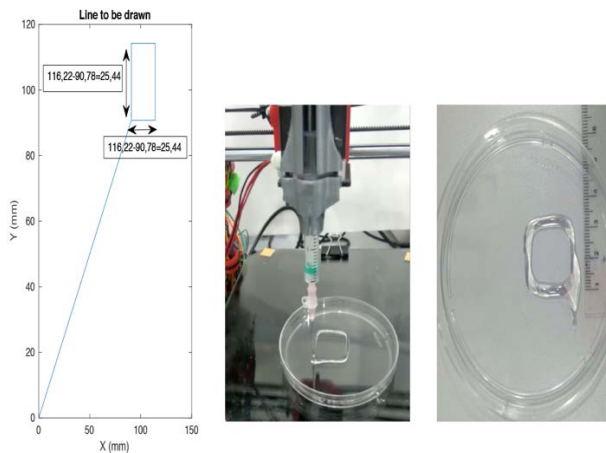


Figure 6. Matlab interface depiction of printed geometry, printing process and geometrical comparison.

4. Discussion

A functional bio-printer was developed through the adaptation of a commercial 3D Printer with a pressure driven syringe pump and hydrogel analysis was performed. The implementation of a recently developed extrusion system [3] as cell deposition mechanism allowed the generation of structurally dense and stable printed constructs.

Bio-printers have proved the three dimensional deposition of viable cells into tissue constructs. However, they require complex technology with sky-high prices [3-5]. In this project, a modular and cost-effective bio-printer has been implemented in a laboratory *de novo*. Cost-effectiveness results from the expanding 3D Printing industry which benefits from a wide open-source community and Do It Yourself (DIY) customers. Moreover, the customizable mechanical syringe pump was 3D printed and adapted with the 3D printer's own motors facilitating integration of the system as a whole through the computer generated motion program. Different approaches to a cost-effective implementation of bio-printing techniques have been reported elsewhere [6,8].

Compromise between structural fidelity and cellular viability conferred by hydrogels has been acknowledged as being one of the main features restraining further progress in the Biofabrication field [4]. We can find cell carriers with a myriad of different forms and characteristics [3-4], where adaptation to the deposition mechanism is essential. We fulfilled the optimizations required for adaptation through an extensive analysis of rheological, cytotoxic and physical characteristics of plasma derived fibrin and alginate gels. Results, yielded 4% alginate as suitable for functional use of the bio-printer.

For future improvements, novel hydrogels should be studied with combined bioactivity and high viscosities. Moreover, further analysis should be performed on the bio-printed construct so as to confirm cellular viability. Software and physical improvements such as implementation of a multinozzle system could expand bioprinting possibilities as a research technique.

In conclusion, automated cellular structures can be designed and printed in a geometrically stable display and, as proven by this project, this technology promises to become increasingly more accessible, accentuating its future relevance in the medical field.

Acknowledgments

We would like to thank the whole of the Laboratory of Organs and Bioartificial Matrices of the Gregorio Marañón Hospital as well as TERMeG group in the Bioengineering department of the Carlos III University. Finally, the rheological work undergone was supported by ICTAN-CSIC.

References

- [1] Billiet T, Vandenhoute M, Schelfhout J, Van Vlierberghe S, Dubruel P. A review of trends and limitations in hydrogel-rapid prototyping for tissue engineering. *Biomaterials*, vol 33, sup 26, 2012, pp 6020-41 (ISSN 0142-9612).
- [2] Web page of the Washington post, 'Donated organs kept "alive" may ease the transplant shortage'. https://www.washingtonpost.com/national/health-science/donated-organs-kept-alive-may-ease-the-transplant-shortage/2016/05/22/7868ceee-1d43-11e6-8c7b-6931e66333e7_story.html (Seen: June 2016).
- [3] Panwar A, Tan LP. Current Status of Bioprinting for Micro-Extrusion-Based 3D Bioprinting. *Molecules*, vol 21, sup 6, 2012 (ISSN 1420-3049).
- [4] Malda J, Visser J, Melchels FP, Jüngst T, Hennink WE, Dhert WJA, et al. 25th Anniversary Article: Engineering Hydrogels for Biofabrication. *Advanced Materials*, vol 25, sup 36, 2013, pp 5011-28 (ISSN 1521 4095).
- [5] Aguado BA, Mulyasmita W, Su J, Lampe KJ, Heilshorn SC. Improving Viability of Stem Cells During Syringe Needle Flow Through the Design of Hydrogel Cell Carriers. *Tissue Engineering Part A*, vol 18, sup 7-8, 2011, pp 806-15 (ISSN 1937-335X).
- [6] Hinton TJ, Jallerat Q, Palchesko RN, Park JH, Grodzicki MS, Shue H-J, et al. Three-dimensional printing of complex biological structures by freeform reversible embedding of suspended hydrogels. *Science Advances*, vol 1, sup 9, 2015 (ISSN 2375-2548).
- [7] Walker R.H, Technical manual, 11th ed, American Association of Blood Banks, 1993 (ISBN:1563950197)
- [8] Reid JA, Mollica PA, Johnson GD, Ogle RC, Bruno RD, Sachs PC. Accessible bioprinting: adaptation of a low-cost 3D-printer for precise cell placement and stem cell differentiation. *Biofabrication*. vol 8, sup 2, 2016 (ISSN 1758-5090)

Herramienta para la Evaluación Automática del Alzheimer y Otras Demencias Relacionadas

S. López¹, E. García¹, M.J. Corrales², L. Burriel², P. García², G. Bueno¹

¹ VISILAB Group, E.T.S.I.I., UCLM, Ciudad Real, España, {Samuel.Lopez, Eloy.Garcia, Gloria.Bueno}@uclm.es

² Hospital General Universitario de Ciudad Real, España

Resumen

En este trabajo se ha desarrollado una herramienta informática con la que los profesionales especializados en neurociencia pueden realizar evaluaciones neuropsicológicas de manera digital ayudándolos a realizar los cálculos necesarios en los diferentes test neuropsicológicos, así como a la generación de los informes correspondientes. Con esta herramienta pretendemos ayudar en la determinación del diagnóstico de demencias y deterioros cognitivos.

1. Motivación

A causa de una esperanza de vida mayor que nuestros antepasados y a la ampliación de las edades en las que la población dejará de trabajar, el abordaje terapéutico de las enfermedades neurodegenerativas son un gran reto en la sociedad moderna.

Se conoce como enfermedad neurodegenerativa al tipo de enfermedades en las que se produce una muerte progresiva de neuronas en diferentes regiones del sistema nervioso. Está pérdida progresiva origina los signos y síntomas neurológicos y neuropsicológicos que caracterizan cada célula nerviosa.

Se debe reseñar que la evaluación neuropsicológica no debe ser un procedimiento único para el diagnóstico o el seguimiento de la enfermedad, sino que debe ser parte de un sistema inteligente de toma de decisiones y asistencia al diagnóstico en el que sea computable como una prueba complementaria a las habituales como neuroimagen, electroencefalografía o bioquímica, entre otras.

La necesidad fundamental que identificamos es la optimización del tiempo que el profesional dedica en consulta al paciente, dando un diagnóstico más eficaz al combinar diferentes test neuropsicológicos con una rápida corrección. Por ello se hace necesario implementar herramientas que ayuden a automatizar este proceso.

A continuación, se explica la metodología utilizada en el desarrollo de la herramienta implementada, la experimentación realizada y sus resultados [1][2].

2. Metodología

Las principales dimensiones de evaluación de los test son:

- *Evaluación funcional*: destinada a valorar las actividades básicas e instrumentales de la vida

diaria con el fin de determinar si el paciente conserva su funcionalidad e independencia.

- *Evaluación cognitiva*: recoge un amplio espectro de pruebas para determinar el estado cognitivo de la persona. Entre estas dimensiones se encuentran las capacidades atencionales, la memoria y el aprendizaje, las funciones ejecutivas y las capacidades visoperceptivas, visoespaciales y visoconstructivas.
- *Evaluación psiquiátrica*: consiste en un inventario de los síntomas neuropsiquiátricos más frecuentes y un test específico de los síntomas depresivos.

Los test generan unas puntuaciones que son volcadas en la herramienta. Una vez recogidas todas las puntuaciones, la herramienta informática las transforma en un lenguaje común expresado en puntuaciones escalares, corrigiendo estas puntuaciones en función de la edad y del nivel cultural del paciente. Esta corrección consigue que las puntuaciones sean lo más reales posibles al grupo de referencia que ha sido sometido a estas mismas pruebas a fin de comparar su normalidad o anormalidad de ejecución [2].

En total se utilizan 18 test para medir diferentes funciones cognitivas y así valorar el estado del paciente.

Los test implementados son:

- Orientación
- Span auditivo y visoespacial [3]
- Trail Making Test A, Trail Making Test B [3]
- Trail Making Color [3]
- Prueba de memoria auditiva [4]
- Figura de Rey [5]
- Test de denominación de Boston [6]
- Fluidez fonética y fluidez semántica [7]
- Semejanzas [8]
- Alternancias gráficas [9]
- Test del reloj [10]
- Matrices [8]
- Escala Yesavage [11]
- Inventario neuropsiquiátrico (NPI) [12]
- Escala de Barthel [13]

– Escala de Lawton y Brody [14]

Las Funciones cognitivas que se valoran con la batería de test disponible en la herramienta son:

- Memoria
- Atención
- Funciones ejecutivas
- Memoria de trabajo
- Funciones viso-/perceptivas, -espaciales, -constructivas.
- Actividades básicas de la vida diaria.
- Actividades instrumentales de la vida diaria.
- Psicopatología.

Los test desarrollados en la herramienta se dividen en los siguientes grupos:

Test formados por baterías de preguntas o pruebas basadas en formulario. Evalúan las capacidades atencionales, capacidades de abstracción y flexibilidad cognitivas, psicopatologías del paciente actividades de la vida diaria y capacidad espacial.

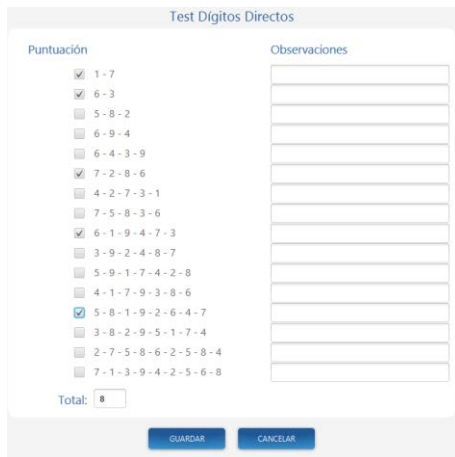


Figura 1. Ejemplo test formado por batería de preguntas[2][3]

Test formados por preguntas apoyadas en imágenes. Se evalúan trastornos como la afasia u otros trastornos relacionados y capacidades de razonamiento no verbal a diferentes tipos de tareas.

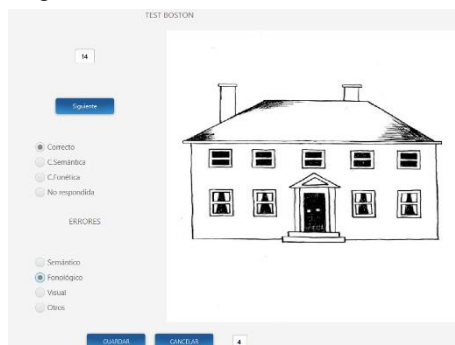


Figura 2. Ejemplo test formados por preguntas apoyadas en imágenes[2][6]

Test con reconocimiento de voz. En este tipo de test intervienen funciones cognitivas como la atención, la memoria operativa, habilidad para mantener la producción de palabras, flexibilidad mental, capacidad de

inhibición de respuesta, velocidad de procesamiento mental y memoria semántica.

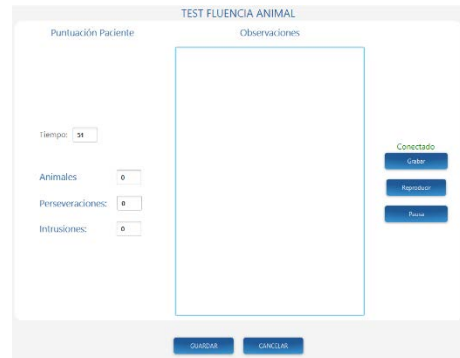


Figura 3. Ejemplo test con reconocimiento de voz[2][7]

Test formados por elementos gráficos o multimedia. Sirven para medir la capacidad atencional y percepción visoespacial del paciente.

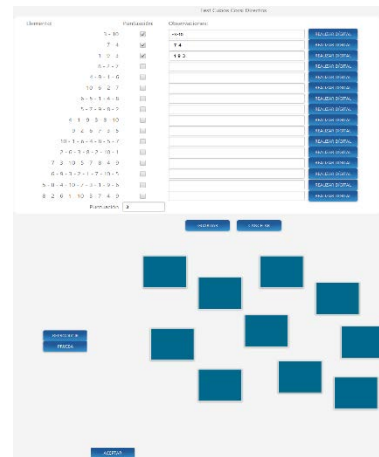


Figura 4. Ejemplo test formados por elementos gráficos o multimedia[2][3]

Test para medir la habilidad mediante el dibujo. Se utilizan para medir capacidades como la velocidad visomotora, memoria visual, velocidad de procesamiento, función ejecutiva, capacidad viso-constructiva gráfica y capacidad de planificación organizativa.

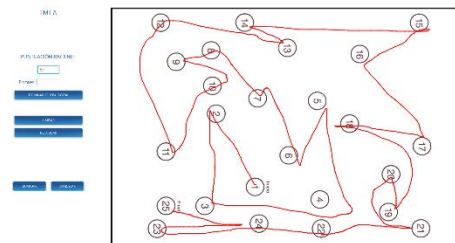


Figura 5. Ejemplo test para medir la habilidad mediante el dibujo[2][3]

Una vez realizada la evaluación se detallan todas las pruebas con las puntuaciones obtenidas y la interpretación correspondiente a esas puntuaciones. En la Figura 6 se muestra un ejemplo de los resultados generados por la herramienta a nivel escalár y su interpretación.

PRUEBAS APLICADAS	RESULTADOS		INTERPRETACIÓN
	PUNTUACIÓN DIRECTA	PUNTUACIÓN ESCALAR	
Escala de Barthel	100		Autonomía en las actividades de la vida diaria.
Lavador y Brody	8		Independencia Total
Vestimenta	6		Normal
Orientación Temporal	5		Normal
Orientación Espacial	5		Normal
Orientación Personal	3		Normal
Dígitos auditivos directos	7	15	Superior
Dígitos auditivos indirectos	6	10	Superior
Cubos Corsi directos	4	10	Normal
Cubos Corsi indirectos			
TMT-A	55	10	Normal
Errores TMT-A			
TMT-B o TMC	6	10	Superior
Errores TMT-B			

Figura 6. Ejemplo de resultados generados

La herramienta genera gráficas como las que se pueden ver en la Figura 7 y 8, donde podemos observar cómo se dividen por colores las diferentes funciones cognitivas evaluadas y las variables que engloba cada función cognitiva.

3. Pruebas

Se han desarrollado diversas pruebas con pacientes afectados por la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer.

3.1. Enfermedad de Parkinson vs Enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Parkinson (EP) y la demencia con cuerpos de Lewy (D-CL) son las enfermedades más frecuentes después de la enfermedad de Alzheimer (EA).

Las personas diagnosticadas de enfermedad de Parkinson tienen el doble de posibilidades de desarrollar deterioro cognitivo leve que las personas sanas.

Entre los déficits cognitivos provocados por la EP, existen fluctuaciones en la atención, disfunción ejecutiva y alteraciones en el recuerdo libre y en la función visoespacial. Las funciones básicas del lenguaje se hallan preservadas [15].

Para evaluar a los pacientes con EP, se han adaptado las sugerencias que observamos en la Tabla 1

Dominio Cognitivo	Test
Atención y memoria de trabajo	Trail Making Test, Span de dígitos.
Función ejecutiva	Tareas de fluidez verbal, Test del dibujo del reloj.
Función visoespacial	Copia del reloj.
Memoria	Test de aprendizaje de listas de palabras con recuerdo demorado y reconocimiento.
Lenguaje	Razonamiento Abstracto, Test de

denominación por confrontación visual.

Tabla 1. Ejemplos de test para el diagnóstico de deterioro cognitivo leve en la enfermedad de Parkinson

Se han sometido a evaluaciones neuropsicológicas 4 participantes “controles”, 9 participantes afectados con enfermedad de Parkinson y 7 participantes afectados de EA. Como queda claramente documentado en la experiencia clínica y en la literatura científica, se observan diferencias notables entre ambos grupos a nivel mnésico (memoria anterógrada) sobre todo en el reconocimiento de la información presentada, en el caso de la EA podemos apreciar una ejecución alterada en memoria anterógrada que no mejora en el reconocimiento, describiéndose en ambas una alteración en la evocación de la información (ver Figura 7 y 8).

Otras dimensiones cognitivas diferenciables son las capacidades atencionales, con dificultades en ambos casos y en lenguaje, observándose una peor puntuación en los pacientes con EA.

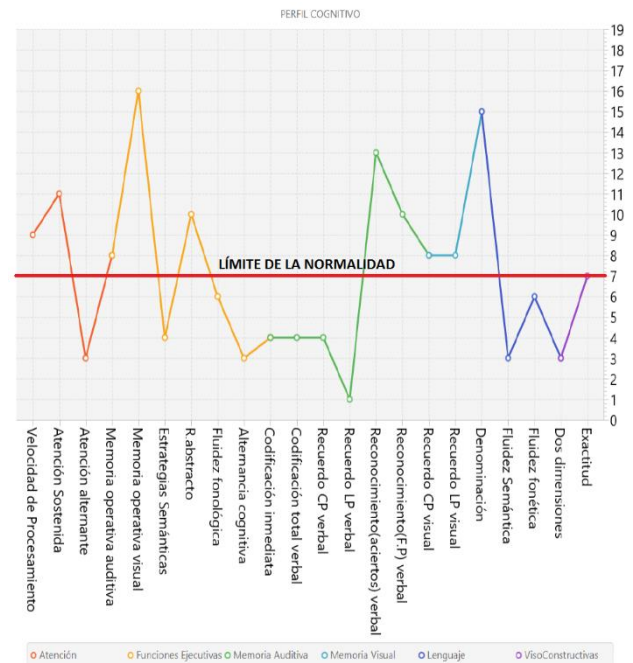


Figura 7. Ejemplo de perfil frontosubcortical (EP).

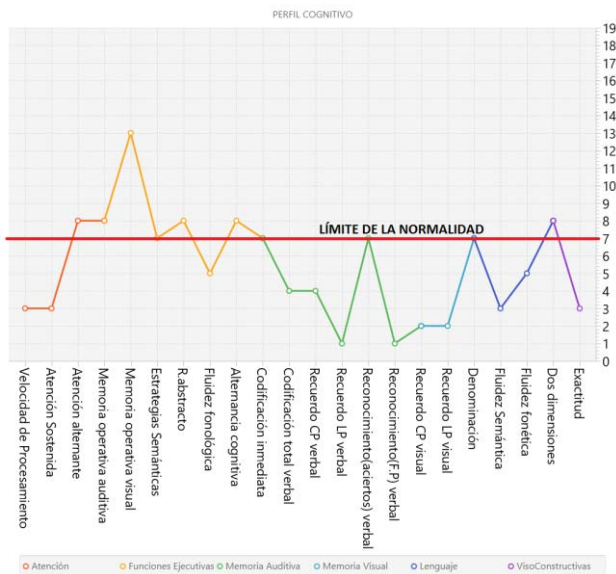


Figura 8. Ejemplo de perfil amnésico (EA).

La evaluación fue llevada por un neuropsicólogo que redujo una media de 15 minutos por cada 60 minutos de evaluación.

La herramienta está ya disponible para su uso siendo valorada y testada también por especialistas del Hospital General Universitario de Ciudad Real, teniendo muy buena aceptación y valorando su usabilidad.

4. Conclusiones

La herramienta desarrollada permite realizar una evaluación neuropsicológica completa, discriminando entre perfiles cognitivos de numerosas patologías, obteniendo los cálculos de las pruebas realizadas de forma rápida y precisa, proporcionando un informe que permite establecer la valoración cognitiva del paciente con un 25% menos de tiempo respecto a la valoración tradicional en formato de lápiz-papel.

Agradecimientos

Agradecimiento a la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha por la financiación de este proyecto de referencia: PPII-2014-008 y a la Asociación de enfermos de Parkinson de Ciudad Real Virgen del Prado.

Referencias

[1] R. Alberca, S. López-Pousa, et al. Enfermedad de Alzheimer y otras demencias. Editorial Médica Panamericana, 2002.

[2] López Martín de Vidales, S. (2016). Aplicación para el Diagnóstico de Demencias y Deterioros Cognitivos mediante Test Neuropsicológicos.

[3] F Tamayo, M Casals-Coll, G Sánchez-Benavides, M Quintana, RM Manero, T Rognoni, L Calvo, R Palomo, Aranciva F, y J Peña-Casanova. Estudios normativos españoles en población adulta joven (Proyecto NEURONORMA jóvenes): normas para las pruebas span

verbal, span viso-espacial, Letter-Number Sequencing, Trail Making Test y Symbol Digit Modalities Test. *Neurología*, 24(4):321–341, 2009.

[4] María Jesús Benedet y María Ángeles Alejandre. TAVEC: test de aprendizaje verbal España-Complutense: manual. TEA ediciones, 1998.

[5] R Palomo, M Casals-Coll, G Sánchez-Benavides, M Quintana, RM Manero, T Rognoni, L Calvo, F Aranciva, Tamayo F, y J Peña-Casanova. Spanish normative studies in young adults (NEURONORMA Young adults project): Norms for the Rey–Osterrieth Complex Figure (copy and memory) and Free and Cued Selective Reminding Test. *Neurología (English Edition)*, 28(4):226–235, 2013.

[6] F Aranciva, MCasals-Coll, G Sánchez-Benavides, M Quintana, RM Manero, T Rognoni, L Calvo, R Palomo, F Tamayo, y J Peña-Casanova. Estudios normativos españoles en población adulta joven (Proyecto NEURONORMA jóvenes): normas para el Boston Naming Test y el Token Test. *Neurología*, 27(7):394–399, 2012.

[7] MCasals-Coll, G Sánchez-Benavides, M Quintana, RM Manero, T Rognoni, L Calvo, R Palomo, F Aranciva, F Tamayo, y J Peña-Casanova. Estudios normativos españoles en población adulta joven (proyecto NEURONORMA jóvenes): normas para los test de fluencia verbal. *Neurología*, 28(1):33–40, 2013.

[8] D Wechsler. Escala de Inteligencia Wechsler para Adultos (WAIS-III) TEA, 1999.

[9] Mardomingo, M. D. C. D., Gómez, J. C., Arias, M. R. M., & Adrados, H. P. (2012). Estabilidad de las dimensiones cognitivas de una batería de tests neuropsicológicos. *Psicothema*, 24(4), 587-593.

[10] J Cacho, R García-García, J Arcaya, JL Vicente, y N Lantada. Una propuesta de aplicación y puntuación del test del reloj en la enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol*, 28(7):648–655, 1999.

[11] J Martínez de La Iglesia, Ma Onís Vilches, R Dueñas Herrero, C Albert Colomer, C Aguado Taberné, y R Luque Luque. Versión española del cuestionario de Yesavage abreviado (GDS) para el despistaje de depresión en mayores de 65 años: adaptación y validación. *Medifam*, 12(10):26–40, 2002.

[12] Jeffrey L Cummings, Michael Mega, K Gray, Susan Rosenberg- Thompson, Daniela Anne Carusi, y Jeffrey Gornbein. The Neuropsychiatric Inventory comprehensive assessment of psychopathology in dementia. *Neurology*, 44(12):2308–2308, 1994.

[13] Florence I Mahoney. Functional evaluation: the Barthel index. *Maryland state medical journal*, 14:61–65, 1965.

[14] MP Lawton y Elmne M Brody. assessment of older people: self-maintaining and instrumental activities of daily living. *Nursing Research*, 19(3):278, 1970.

[15] Murat Emre, Dag Aarsland, Richard Brown, David J Burn, Charles Duyckaerts, Yoshikino Mizuno, Gerald Anthony Broe, Jeffrey Cummings, Dennis W Dickson, Serge Gauthier, et al. Clinical diagnostic criteria for dementia associated with Parkinson’s disease. *Movement Disorders*, 22(12):1689–1707, 2007.

Validación objetiva mediante técnicas de eye-tracking del módulo online para la formación de enfermeros en laparoscopia

JF. Ortega Morán¹, JB. Pagador¹, L. Bote Curiel¹, J. Maestre Antequera¹, FM. Sánchez Margallo¹

¹ Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España, {jfortega,jbpagador,lbote,jmaestre,msanchez}@ccmijesususon.com

Resumen

El blended learning o aprendizaje semipresencial tiene gran aceptación en el sector sanitario. En este trabajo se realiza la validación objetiva del módulo teórico online de un curso de formación en laparoscopia para enfermería implementado con este modelo. Para ello, se ha utilizado tecnología de eye-tracking, ampliamente utilizada en la validación de entornos web, registrando la mirada de usuarios finales (enfermeros) mientras realizan tareas en la plataforma web. Posteriormente se extraen métricas relacionadas con las fijaciones de los usuarios en áreas de interés, se analizan los mapas de calor y las trayectorias de exploración. Los resultados muestran que los enfermeros acceden rápidamente a las lecciones y cuestionarios de las secciones para visualizar sus contenidos, pero tienen dificultad para navegar por ellas. Por otro lado, los cuestionarios se deben readaptar para ser más comprensibles. Además, el menú izquierdo de la plataforma es el más visitado por los usuarios, siendo quizá el lugar idóneo para colocar las herramientas que han tenido más dificultad de acceso para los enfermeros (foro, ayuda). En conclusión, tras los resultados satisfactorios obtenidos en las pruebas de evaluación realizadas, se demuestra la necesidad de realizar una validación de usabilidad por los usuarios finales para detectar problemas no identificados por los expertos durante la validación previa, siendo de gran utilidad para ello las técnicas de eye-tracking utilizadas.

1. Introducción

En la actualidad se están desarrollando cada vez más entornos web de e-learning para la formación de profesionales de la salud, entre los que se encuentran los enfermeros. Dichos entornos son utilizados para impartir formación a distancia online, que unido a la formación presencial dan lugar al “aprendizaje semipresencial” o “blended learning”, uno de los métodos de formación que está adquiriendo más auge entre este sector profesional [1]. Puesto que este método de enseñanza es el preferido por los enfermeros [2], se ha creado un curso de formación en laparoscopia para enfermería basado en dicho método teniendo en cuenta las necesidades formativas de los enfermeros en el campo de la Cirugía de Mínima Invasión (CMI) [3]. Este curso se compone de dos módulos: un módulo práctico presencial, que debe realizarse en un centro de referencia especializado, y un módulo teórico online, que se desarrolla a distancia a través de un entorno web (Figura 1).

Se ha realizado una validación preliminar de funcionalidad, usabilidad y contenidos del módulo teórico online del curso de “blended learning” creado. Dichas pruebas se han llevado a cabo por medio de expertos

técnicos y enfermeros, con resultados generales muy satisfactorios [4].



Figura 1. Entorno web implementado.

En cuanto a la funcionalidad, todas sus características técnicas funcionan correctamente, cumpliendo con los requisitos funcionales extraídos inicialmente. Desde el punto de vista de la usabilidad, el entorno web implementado es considerado por los expertos como fácil de usar y con una navegación intuitiva. Además, el diseño ha sido valorado positivamente por todos los expertos como atractivo, organizado y con un uso adecuado de los colores. Respecto a los contenidos del módulo teórico del curso, los resultados muestran que la cantidad de contenidos, así como la calidad y distribución de los mismos, son adecuadas en todas las secciones. Es de destacar por los expertos la alta calidad y utilidad de los diseños 3D y vídeos quirúrgicos incluidos en las secciones, puesto que son la base de los contenidos del curso. Por su parte, los cuestionarios incluidos al final de cada sección están formados por una cantidad adecuada de preguntas, cuya dificultad es acorde al contenido estudiado previamente en cada sección, con alguno de ellos mejorable. Por otro lado, también se han evaluado de manera global los contenidos del módulo online, destacando los expertos enfermeros que se entienden fácilmente, están actualizados, completos y se aplican correctamente a fines didácticos, cubriendo todos los aspectos de un curso de laparoscopia para enfermería.

A pesar de los favorables resultados obtenidos en la validación preliminar por expertos, es necesario realizar una validación de usabilidad a nivel de usuario del entorno web para saber cómo interaccionan los usuarios con ellos y para detectar problemas de usabilidad, puesto que su diseño está centrado en el usuario. Para ello, el “eye-tracking” o “seguimiento de la mirada” es una tecnología emergente utilizada para extraer métricas objetivas de usabilidad en entornos web [5]. Sin embargo, hoy en día hay pocos estudios realizados sobre el uso de “eye-trackers” para la validación de usabilidad de tecnologías de la salud [6].

El objetivo de este estudio es dar a conocer los resultados de la validación objetiva a través de la tecnología de “eye-tracking” de aspectos de usabilidad del entorno web de e-learning correspondiente al módulo teórico del curso de formación en laparoscopia para enfermeros.

2. Metodología

Cinco enfermeros pertenecientes al personal del Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón fueron reclutados para participar en las pruebas de validación. Esta pequeña muestra es suficiente para obtener una gran colección de datos de fijaciones y movimientos del ojo en la validación, y además, según la bibliografía [7], es una cantidad suficiente para detectar problemas en estudios de usabilidad. Para realizar las pruebas de validación se utilizaron las gafas de eye-tracking 2w de SMI y su software de análisis SMI BeGaze™. Los enfermeros debían realizar la siguiente lista de tareas en el entorno web en un tiempo máximo correspondiente a dos veces el tiempo que tarda un administrador web del sitio, y cuatro veces en la tarea 4 debido a su dificultad

- T1: Entra en la sección “1. Introducción” y visualiza los apartados “Torre laparoscópica” e “Insuflador de CO₂”. ($t_{\max} = 3'$)
- T2: Realiza el cuestionario de la sección “4. Laparoscopia para enfermería”. ($t_{\max} = 2' 30''$)
- T3: Encuentra el glosario de diseños 3D de instrumental y abre el archivo pdf del diseño 3D del “Babcock”. ($t_{\max} = 3'$)
- T4: Añade un nuevo tema de discusión en el foro general del curso. ($t_{\max} = 1' 30''$)
- T5: Envíale un mensaje al administrador del sitio mediante la opción de ayuda. ($t_{\max} = 1' 30''$)

Para realizar las pruebas se utilizó el mismo protocolo con todos los enfermeros:

1. Se informa al usuario sobre los objetivos de las pruebas, siguiendo un método similar al simple-ciego, donde el participante no es informado realmente sobre el objetivo del test para evitar tendencias en los resultados.
2. El usuario se sienta delante del ordenador en su posición habitual.
3. Se realiza la calibración de las gafas de “eye-tracking”.

4. El usuario realiza las tareas sin ayuda del administrador del sitio.

Para analizar los resultados obtenidos de las pruebas, primero se definen Áreas de Interés (AOI) donde se espera que los usuarios pongan su atención. Las AOIs definidas fueron las siguientes:

- AOI1: Enlace central de acceso a la sección 1.
- AOI2: Enlace lateral de acceso a la sección 1.
- AOI3: Enlace central de acceso al cuestionario de la sección 4.
- AOI4: Enlace lateral de acceso al cuestionario de la sección 4.
- AOI5: Pregunta 1 del cuestionario de la sección 4.
- AOI6: Pregunta 2 del cuestionario de la sección 4.
- AOI7: Enlace de acceso al diseño 3D del “Babcock”.
- AOI8: Enlace de acceso al foro general del curso.
- AOI9: Enlace de acceso a la opción de ayuda.
- AOI10: Menú izquierdo
- AOI11: Menú derecho

A continuación, se extraen las siguientes métricas:

- M1: Duración media de la mirada en un AOI (ms).
- M2: Proporción de usuarios que visitan un AOI (usuarios que visitan/total usuarios).
- M3: Número medio de visitas a un AOI (\bar{x}).
- M4: Proporción de revisitantes de un AOI (usuarios que revisitan/total usuarios).
- M5: Tiempo medio transcurrido hasta la primera fijación en un AOI (ms).
- M6: Número medio de fijaciones en un AOI (\bar{x}).

Además, se grabaron patrones de exploración visual de los enfermeros mediante las herramientas de mapa de calor (heat maps) y trayectoria de exploración (scan path).

3. Resultados

Tras aplicar una corrección de offset de la mirada en las grabaciones que lo necesitan, se extraen las métricas y patrones visuales de los enfermeros. Las métricas obtenidas en cada una de las tareas realizadas por los usuarios se muestran en la tabla 1.

El tiempo medio transcurrido hasta la primera fijación (M5) en los enlaces centrales de acceso a la sección 1 (AOI1) y al cuestionario de la sección 4 (AOI3) es de 199,5 ms. La duración de la mirada (M1) en las preguntas 1 y 2 del cuestionario (AOI5 y AOI6) son 22.763,8 ms y 13.094,3 ms respectivamente, y el número medio de fijaciones (M6) es 83,2 y 52,0. Además, el número medio de visitas (M3) a dichas AOIs es 4,4 y 2,8, y la proporción de revisitantes es 4/5 en ambas. La duración media de la mirada (M1) en el menú izquierdo (AOI11) es de 22.730,6 ms en la tarea 3, 8.259,6 ms en la tarea 4 y 16.845,1 ms en la tarea 5. El número medio de fijaciones (M6) en dicha AOI11 es 74,8 en la tarea 3, 28,2 en la tarea 4 y 60,4 en la tarea 5. El enlace de acceso al foro (AOI8) solamente lo visualizan 2/5 de los usuarios.

		M1 (ms)	M2 (#/#)	M3 (\bar{x})	M4 (#/#)	M5 (ms)	M6 (\bar{x})
Tarea 1	AOI1	1.183,8	5/5	1,8	3/5	199,5	4,8
	AOI2	0,0	0/5	-	0/0	0,0	0,0
Tarea 2	AOI3	877,8	5/5	1,2	3/5	199,5	4,2
	AOI4	33,3	1/5	0,0	0/1	33,3	0,2
	AOI5	22.763,8	5/5	4,4	4/5	259,4	83,2
	AOI6	13.094,3	5/5	2,8	4/5	139,6	52,0
Tarea 3	AOI7	1.536,3	5/5	0,8	3/5	299,3	4,4
	AOI10	22.730,6	4/5	5,3	2/4	139,7	74,8
	AOI11	764,8	3/5	3,0	2/3	99,8	3,8
Tarea 4	AOI8	465,5	2/5	0,5	1/2	66,5	1,6
	AOI10	8.259,6	4/5	2,3	2/4	119,7	28,2
	AOI11	6.404,2	3/5	12,3	2/3	119,7	22,6
Tarea 5	AOI9	1.283,5	5/5	1,0	3/5	159,6	4,6
	AOI10	16.845,1	5/5	4,8	5/5	212,8	60,4
	AOI11	6.610,4	5/5	3,4	5/5	126,4	26,0

Tabla 1. Resultados de la validación objetiva de usabilidad realizada con técnicas de eye-tracking.

Tareas: Visualizar contenido (T1), realizar cuestionario (T2), ver diseño 3D (T3), añadir tema foro (T4), enviar mensaje (T5).

Métricas: Media duración (M1), proporción visitas (M2), media revisitas (M3), proporción revisitantes (M4), tiempo medio 1ª fijación (M5), media fijaciones (M6).

Áreas de Interés: Enlace central (AOI1) y lateral (AOI2) de la sección 1, enlace central (AOI3) y lateral (AOI4) del cuestionario 4, pregunta 1 (AOI5) y 2 (AOI6) del cuestionario 4, enlace del diseño 3D (AOI7), enlace del foro (AOI8), enlace de ayuda (AOI9), menú izquierdo (AOI10) y derecho (AOI11).

4. Discusión

Los resultados muestran que los enfermeros acceden rápidamente a las lecciones y cuestionarios de las secciones para visualizar sus contenidos, con un tiempo transcurrido hasta la primera fijación muy bajo. Con ello se cumple la premisa que indica que los sitios web educacionales deben orientar adecuadamente a los usuarios en la búsqueda de contenidos [8]. Sin embargo, analizando los mapas de calor y las trayectorias de exploración, raramente tienen fijaciones en los botones para navegar entre lecciones y en el menú de la lección, lo que supone que tienen dificultades para navegar secuencialmente en las secciones. Esto es contrario a la premisa que promueve la correcta colocación y visibilidad de los botones o enlaces en el diseño de una página web [9]. Por lo tanto, para conseguir una fácil e intuitiva navegación por el contenido de las secciones, es necesario mejorar la visibilidad y colocación de los botones de navegación entre lecciones.

Los cuestionarios obtienen valores muy elevados para ciertas métricas, como la duración de la mirada o el número de fijaciones. Esto puede indicar que los usuarios les prestan mucha atención. Sin embargo, el elevado número de revisitas y revisitantes hace indicar que los cuestionarios presentan dificultades para interpretar sus

contenidos por los usuarios y tienen que volver a visualizarlos varias veces. Por lo tanto, sería conveniente readaptarlos para hacerlos más comprensibles a los usuarios, ya que la satisfacción de estos está correlacionada con la precisión y comprensibilidad del contenido de la información de una página web [10].

En las tareas 1 y 2, relacionadas con acceso a contenidos del curso, los usuarios acceden a los mismos a través de accesos situados en el menú central, obviando prácticamente los mismos accesos del menú lateral izquierdo. Sin embargo, en las tareas 3,4 y 5, relacionadas con el acceso a herramientas adicionales que ofrece la plataforma web, el menú del curso de la izquierda tiene el mayor número y duración de fijaciones. Analizando los mapas de calor y la exploración de trayectorias, los enfermeros siempre empiezan a mirar sobre este menú para realizar las tareas, y hasta que encuentran la herramienta en cuestión, los usuarios vuelven y buscan continuamente en dicho menú izquierdo. El menú derecho también tiene un elevado número y duración de fijaciones, pero en menor medida.

Se han obtenido resultados inesperados, donde herramientas aparentemente más visibles y fáciles de alcanzar (foro, ayuda) presentan dificultades y métricas similares a botones más escondidos (glosario de diseños 3D). Analizando los mapas de calor y las métricas de las tareas para acceder a dichas herramientas, los usuarios emplean mucho tiempo buscando en el menú de la izquierda antes de encontrar el enlace buscado (Figura 2). De hecho, al enlace de acceso al foro sólo acceden 2 de los 5 enfermeros. Por ello, al ser el menú de la izquierda el más importante para los usuarios, es necesario hacer más visibles las herramientas o utilidades que no están allí o incorporarlas en este menú, haciendo de nuevo hincapié en la adecuada colocación y visibilidad de los enlaces o botones para conseguir una página web de calidad [9].

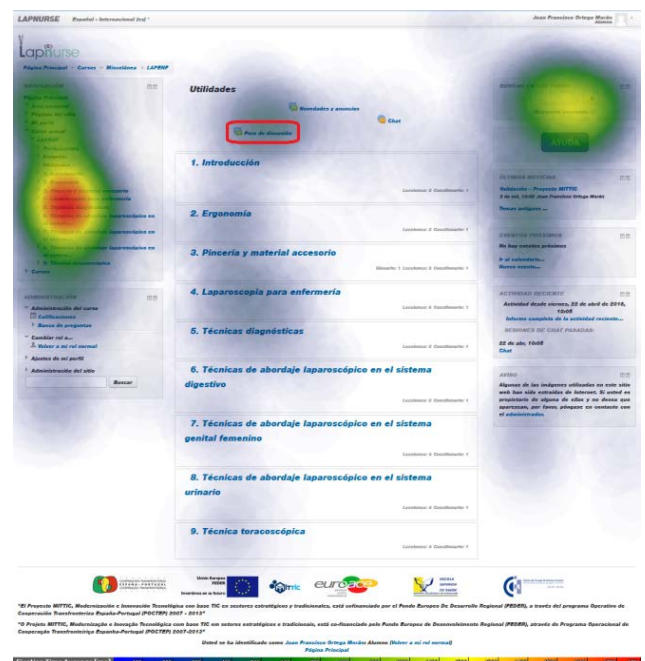


Figura 2. Mapa de calor de los enfermeros buscando el foro (cuadrado rojo).

Si comparamos los resultados obtenidos en este estudio de validación realizado por usuarios finales enfermeros con la validación preliminar realizada anteriormente por expertos técnicos y enfermeros [4], en cuanto a aspectos de usabilidad, éstos últimos indican que el entorno web implementado es fácil de usar, con una navegación intuitiva. Sin embargo, las pruebas objetivas realizadas mediante la tecnología de eye-tracking por usuarios finales muestran resultados que contradicen lo anterior, haciendo evidente que hay que mejorar la visibilidad y colocación de determinados botones que permitan la navegación por la plataforma web de una manera más fácil e intuitiva. Este hecho evidencia la necesidad de realizar una validación objetiva a nivel de usuario de las plataformas web de e-learning para conseguir una herramienta de alta calidad, ya que permite extraer problemas e inconvenientes más allá de los obtenidos con la validación preliminar por técnicos y expertos.

5. Conclusiones y trabajos futuros

Se ha diseñado e implementado un curso de formación en laparoscopia para enfermería en base a los requisitos formativos en CMI de los enfermeros [3], que consta de un módulo práctico presencial y un módulo teórico online. Ésta última parte se ofrece a los usuarios mediante un entorno web basado en la aplicación Moodle, cuyos resultados generales de la validación de usabilidad realizada por usuarios finales enfermeros ha resultado muy satisfactoria. Se han detectado problemas no identificados por expertos técnicos y enfermeros en la validación previa realizada. Por lo tanto, se ha mostrado que es necesario llevar a cabo una validación por parte de los usuarios que van a utilizar la plataforma web. Para ello, se ha utilizado la tecnología de “eye-tracking”, demostrando que es una herramienta eficiente y útil para la validación de usabilidad de entornos de e-learning puesto que detecta fortalezas y debilidades extraídas desde la perspectiva del usuario.

Como trabajos futuros, se plantea la posibilidad de que los mismos usuarios realicen pruebas similares para mejorar la validación, como por ejemplo el método “Retrospective Think Aloud”. Dicho método consiste en que, una vez realizada la tarea, el usuario debe comentar en voz alta la reproducción de la grabación que se le ha realizado con el dispositivo de eye-tracking. Como resultado, permite extraer información que no es posible obtener únicamente a partir de la exploración visual. Éste ha demostrado ser un método de usabilidad fiable y útil para facilitar la interpretación de los resultados de eye-tracking[11].

Además, los usuarios podrían realizar tareas con la misma dificultad para evaluar su progresión en el aprendizaje de uso de la plataforma.

Agradecimientos

El Proyecto MITTIC, Modernización e Innovación Tecnológica con base TIC en sectores estratégicos y tradicionales, está cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER), a través del Programa

Operativo de Cooperación Transfronteriza España-Portugal (POCTEP) 2007 – 2013.

Ayuda GR15175. Junta de Extremadura. Fondos FEDER.

Ayuda para la formación de Tecnólogos TE14111. Junta de Extremadura. Fondos FEDER.

Referencias

- [1] Ward JA, Beaton RD, Bruck AM, de Castro AB. Promoting occupational health nursing training: An educational outreach with a blended model of distance and traditional learning approaches. *Aaohn Journal*, vol 59, sup 9, 2011, pp 401.
- [2] Ortega-Morán JF, Maestre-Antequera J, Pagador JB, Sánchez-Fernández J, Reis-do-Arco A, Lourenço-Monteiro F, Telo-de-Arriaga M, Ferreira-dos-Santos J, Sánchez-Margallo FM. Adaptación de las nuevas tecnologías para la formación de enfermería especializada en Cirugía de Mínima Invasión. *XXXII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2014)*, Barcelona, 2014.
- [3] Arriaga M, Ortega-Morán JF, Pagador JB, Maestre-Antequera J, Sánchez-Fernández J, Arco A, Monteiro F, Santos J, Sánchez-Margallo FM. Conceptual design of training courses in Minimally Invasive Surgery for nurses using new technologies. *2nd World Congress of Health Research*, Viseu, 2014.
- [4] Ortega-Morán JF, Bote-Curiel L, Pagador JB, Sánchez-Fernández J, Maestre-Antequera J., Sánchez-Peralta LF, Arco A, Monteiro F, Sánchez-Margallo FM. Validación preliminar del módulo online del curso de formación en laparoscopia para enfermería. *XXXIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2015)*, Madrid, 2015.
- [5] Martínez ÓN, Díaz AIM, Alcocer ML. Utilización de eye tracking para evaluar el uso de información verbal en materiales multimedia. *Pixel-Bit. Revista de Medios y Educación*, sup 48, 2016, pp 51-66.
- [6] Asan O, Yang Y. Using eye trackers for usability evaluation of health information technology: A systematic literature review. *JMIR Human Factors*, vol 2, sup 1, 2015, pp e5.
- [7] Davids MR, Chikte U, Grimmer-Somers K, Halperin ML. Usability testing of a multimedia e-learning resource for electrolyte and acid-base disorders. *British Journal of Educational Technology*, vol 45, sup 2, 2014, pp 367-381.
- [8] Gebera OT. Criterios de valoración sobre la usabilidad pedagógica en la formación continua docente. *Razón y Palabra*, vol 17, sup 81, 2012, pp 23-21.
- [9] Peterson ET. *The Big Book of Key Performance Indicators. Book Two in the Web Analytics Demystified Series*. First Edition, 2006.
- [10] Rocha ÁL. Three-dimensional model for the global quality of a website. *International Journal of Business Information Systems*, vol 10, sup 4, 2012, pp 436-446.
- [11] Guan Z, Lee S, Cuddihy E, Ramey J. The validity of the stimulated retrospective think-aloud method as measured by eye tracking. In *Proceedings of the SIGCHI conference on Human Factors in computing systems*, pp 1253-1262, ACM, 2006.

Adaptación del Servicio de Identificación de WSO2 al dominio sanitario

E. Gil Reina, I. Román Martínez^{1,2}, J. Calvillo Arbizu^{2,3}, L.M. Roa Romero^{2,3}

¹ Departamento de Ingeniería Telemática, Universidad de Sevilla, España, isabel@trajano.us.es

² CIBER- BBN

³ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Sevilla, España, Iroa@us.es

Resumen

En este documento se presenta el trabajo realizado para adaptar el servidor de identidad (Identity Server, IS) de la plataforma WSO2 al contexto sanitario, conforme a los estándares de seguridad de OASIS (Organization for the Advancement of Structured Information Standards). El objetivo final es adaptar completamente la plataforma al dominio sanitario para que pueda ser utilizada como escenario de verificación y validación de los prototipos desarrollados en los trabajos de investigación del Grupo de Ingeniería Biomédica de la Universidad. En este trabajo se presentan los primeros pasos hacia ese objetivo.

1. Motivación

Una de las líneas de investigación del Grupo de Ingeniería Biomédica de la Universidad de Sevilla se centra en la integración de sistemas de información sanitarios, utilizando principalmente metodologías y tecnologías del campo de la computación distribuida. De modo que la mayoría de las investigaciones no se enfocan al desarrollo de una aplicación monolítica desde cero, sino que se buscan soluciones de integración a un nivel más alto.

Una de las mayores dificultades encontradas es la implementación de prototipos funcionales, para la verificación y validación de los resultados de investigación, dado que en muchas ocasiones éstos necesitan como soporte un sistema distribuido complejo, con prestaciones de alto nivel. Realizar el desarrollo de este sistema desde cero resulta ineficiente, ya que no tiene interés per se para la investigación, aunque resulte imprescindible para el auténtico fin.

Hasta el momento el problema se ha venido solventando buscando, para cada prototipo, soluciones de software libre ya existentes que pudieran servir de soporte y permitieran reducir el tiempo de desarrollo. Sin embargo a medida que las investigaciones avanzan y los componentes involucrados van aumentando (en número y tipología) encontrar los componentes adecuados e integrarlos comienza a convertirse en una tarea cada vez más compleja.

En este punto se plantea la posibilidad de encontrar una plataforma de código libre que permita tener un entorno de computación distribuida genérico, suficientemente completo para poder desarrollar cualquier prototipo sobre él.

Existen distintas soluciones en el mercado, sin embargo o bien algunas de ellas son de pago o bien otras no presentan todas las prestaciones deseadas. WSO2 [1], una empresa fundada en 2005, ofrece un completo set de componentes de código 100% abierto que permite, a particulares y empresas, construir una arquitectura orientada a servicios (Service Oriented Architecture, SOA) [2] completa.

La hipótesis es que adaptar WSO2 al dominio sanitario permitiría tener una plataforma SOA funcional y completa que facilitaría la implementación de prototipos para validar los futuros resultados de investigación del Grupo.

Dado que se tiene experiencia en los aspectos de control de acceso en sistemas sanitarios [3-5] se ha decidido comenzar la personalización de la plataforma WSO2 precisamente en cuanto a estas funcionalidades se refiere. Así el primer objetivo, del cual presentamos los resultados en este trabajo, ha sido la adaptación al dominio sanitario del servicio de identidad (WSO2 Identity Server, IS) [6], que ofrece las funcionalidades de control de acceso a recursos en la plataforma.

2. Estado de la técnica

2.1. La plataforma WSO2

WSO2 ofrece una plataforma que integra componentes de código libre y basados en estándares abiertos. En su mayoría son soluciones adoptadas de otros desarrolladores, pero WSO2 las integra de forma óptima y proporciona una interfaz de gestión única que facilita en gran medida su manejo. Así se proporciona una solución SOA, de computación distribuida, rentable, ágil y resolutiva a nivel empresarial.

La plataforma permite interactuar con componentes basados en estándares (existentes y futuros), integrándose con una amplia variedad de aplicaciones y permitiendo un fácil acceso a bases de datos y sistemas de archivos. A su vez, es altamente extensible y personalizable. Permite que los desarrolladores puedan ampliar la plataforma, personalizar el código y utilizar cualquier modelo de programación para implementar nuevas funcionalidades. Sin embargo tanto las tareas de despliegue, gestión y mantenimiento, como las de personalización y extensión pueden no resultar sencillas y requerir de personal dedicado y especializado en la materia; ahí encuentra WSO2 su modelo de negocio. En el desarrollo de este proyecto no se ha recurrido en ningún momento a los

servicios de pago que ofrece WSO2, ese era uno de los requisitos principales que se establecieron.

El trabajo se ha centrado en 2 componentes de alto nivel: el servidor de identidad [6] y el servidor de aplicaciones [7]. Pero de forma transparente se hace uso de uno de los elementos principales de WSO2, Carbon [8], el software de intermediación (middleware) sobre el que se sustentan el resto de componentes.

2.2. El control de acceso

La X.812 [9] define el control de acceso como la prevención del uso no autorizado de un recurso. La figura 1 ilustra, de forma sencilla, las principales funciones implicadas en esta tarea.

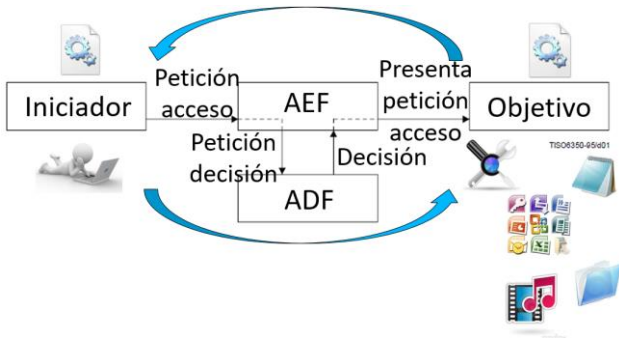


Figura 1. Funciones básicas del control de acceso

El PEP (Policy enforcement Point) tiene la Función de imposición de control de acceso. Cuando cualquier entidad (iniciador) intenta acceder a un recurso (objetivo) intercepta dicho acceso e impone una decisión de autorización que lleva a cabo del PDP (Policy Decision Point) que tiene la Función de decisión de Control de Acceso). Esta decisión la toma el PDP evaluando las Políticas de control de acceso aplicables a dicho acceso, según la información de control de acceso (Access Control Information, ACI) disponible.

Una política de control de acceso es un conjunto de reglas que definen las condiciones bajo las cuales puede tener lugar un acceso. Estas políticas normalmente se encuentran almacenadas y se gestionan en una entidad denominada punto de administración de políticas (Policy Administration Point, PAP). La ACI puede referirse al iniciador, el objetivo y la naturaleza o el contexto del acceso. Esta información puede venir en la propia solicitud o bien puede requerírsele a un tercero, normalmente conocido como punto de información de políticas.

El control de acceso en sistemas reales puede requerir un complejo conjunto de actividades entre las que se pueden destacar:

- Establecer la representación de políticas de control de acceso y la ACI
- Asignar, modificar, vincular y revocar la ACI a elementos (iniciadores, objetivos o peticiones de acceso)
- Poner disponible la ACI para la evaluación de políticas
- Evaluar las políticas y tomar una decisión

Cuando en un acceso hay múltiples dominios de seguridad (DS) involucrados el proceso de control de acceso se complica aún más. Existen varios estándares que se ocupan de normalizar estos aspectos y pueden facilitar el desarrollo de soluciones. En el dominio tecnológico de los servicios web y las arquitecturas orientadas a servicios (SOA) uno de los principales referentes es el binomio SAML/XACML, originariamente publicados por OASIS y posteriormente adoptados por la ITU_T [10,11], que se utilizan en la mayoría de las plataformas SOA (incluyendo la solución de WSO2).

El primero, el lenguaje de marcas de aserción de seguridad (SAML), proporciona un lenguaje XML diseñado para representar la ACI así como así como mecanismos (protocolos) para obtenerla e intercambiarla.

El segundo, el lenguaje extensible de etiquetas para el control de acceso (XACML), proporciona un lenguaje XML para la expresión de políticas de control de acceso y un modelo de control de acceso basado en atributos; incluyendo su contexto, reglas de procesamiento y perfiles para su aplicación a escenarios concretos. La figura 2, basada en la norma, representa el diagrama de colaboración entre entidades en XACML.

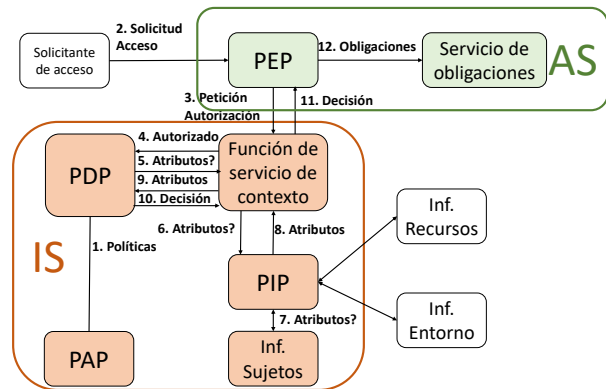


Figura 2. Diagrama de colaboración entre entidades XACML

OASIS publica en 2009 XSPA (Cross-Enterprise Security and Privacy Authorization Profile), perfil que especifica el uso de XACML[12] y SAML[13] en el ámbito de los sistemas sanitarios, con el fin de facilitar la interoperatividad incluso a través de límites organizacionales.

Aunque la solución de WSO2 incluye componentes conformes a SAML/XACML estos no implementan el perfil XSPA. El objetivo principal de este trabajo es precisamente realizar esta adaptación.

3. Desarrollo del trabajo

3.1. Personalización de atributos al perfil XSPA

El servidor de identidad de WSO2 incluye entre sus funciones la de directorio de usuarios. Este directorio está embebido en el servidor y es una versión de un servidor LDAP desarrollado por Apache[14]. Si la organización tuviera ya su propio directorio el sistema permite reutilizarlo, pero como este desarrollo parte de cero se va utilizar el directorio embebido.

La consola gráfica de administración permite editar la información del perfil de usuario. Se puede dar valor a los atributos (en WSO2 conocidos como claims) que definen y caracterizan a un usuario y que serán utilizados como ACI en la evaluación de políticas. Los atributos se agrupan en lo que se conoce como dialecto. La consola de gestión permite tanto modificar los atributos del dialecto que se usa por defecto como crear un dialecto nuevo y cualquiera de las dos opciones permitiría ajustar los atributos al perfil XSPA. El método que a priori parece más óptimo es crear un dialecto nuevo, sin embargo se comprobó que la consola gráfica de administración no permite cambiar el dialecto a utilizar a uno diferente al de por defecto. De modo que a la hora de editar los perfiles de usuario a través de la interfaz gráfica hay que limitarse a usar el dialecto por defecto. Evidentemente al disponer del código de la GUI podría modificarse esta interfaz para que se seleccionara otro, pero dado que no era objetivo del proyecto la modificación del código de la interfaz gráfica, y dadas las restricciones de tiempo y recursos, se optó por modificar el dialecto por defecto y adaptarlo al perfil XSPA para poder continuar avanzando en el proceso de personalización.

Para modificar los atributos del perfil por defecto hay dos opciones:

- Mediante la interfaz gráfica de gestión, en la opción de “Claims”.
- Modificando el archivo de configuración de dialectos y claims (claim-config.xml).

La segunda opción es más versátil, permite una mayor granularidad en la edición (por ejemplo permite cambiar el campo *claim-uri*, lo que no se permite a través de la interfaz gráfica). De modo que se optó por esta opción.

Una vez realizado este paso es necesario realizar el mapeo de los atributos a los campos del directorio. Sin este paso la configuración anterior no tiene consecuencias. La documentación proporcionada por WSO2 para dar soporte a esta tarea es escasa, por lo que se procedió a recabar información de fuentes externas (stackOverFlow) y recursos web auxiliares. Lo primero fue representar en un fichero .ldif la estructura deseada del directorio. LDIF es un estándar utilizado para la importación y exportación de datos de directorio. A continuación se analizaron diversas posibilidades para importar esta estructura en el directorio: reemplazar directamente el archivo .ldif que utiliza el IS o acceder directamente al directorio mediante un software externo, como Apache Directory Server e importar el fichero creado.

Se elige esta segunda opción y tras algunas labores adicionales de configuración se consiguió que los atributos de los perfiles de usuario fueran conformes a XSPA y que resultara sencillo añadir y modificar dichos perfiles a través de la interfaz de gestión, como muestra la figura 3. Esta figura muestra la interfaz de usuario para consultar/modificar los valores de atributos de un determinado sujeto una vez que se ha realizado el trabajo de adaptación del dialecto de atributos a XSPA.

User Profile	
Profile Name *	default
Oasis Organization ID *	1
Oasis Subject ID *	2
Oasis Role	Internal/everyone,Medic,Business
Oasis Subject Purpose of use	Teach
Oasis HL7 Permission *	All
Oasis Organization *	ESI
<input type="button" value="Update"/> <input type="button" value="Cancel"/>	

Figura 3. Atributos conforme al perfil XSPA

3.2. Validación del dialecto y estudio de la API IS.

El siguiente paso ha sido crear y probar un conjunto de políticas que necesitan de ACI conforme a los atributos que se acaban de especificar. Para ello se ha utilizado en primera instancia el módulo de administración de políticas que incluye el IS. Una vez editadas las políticas, que requieren para su evaluación de los nuevos atributos, se ha utilizado la opción de prueba que incluye la GUI y se ha verificado que se recuperan los atributos de usuario del directorio y se utilizan, sin problema, en la evaluación de las políticas.

Con esto se verifica que el funcionamiento del IS a partir de la modificación del dialecto es idéntico y no se necesita ningún esfuerzo adicional de configuración o recodificación.

El IS, como todos los módulos WSO2, proporciona un conjunto de APIs que permiten el uso de sus facilidades desde otras aplicaciones. Dado que el protocolo de acceso a estas funciones es SOAP con SoapUI [15] se pueden probar de forma rápida y sencilla estas facilidades, sin necesidad de implementar realmente la aplicación. Se ha utilizado esta herramienta para verificar el funcionamiento de los servicios proporcionados por el IS a nivel programático, y no sólo a través de la interfaz gráfica de usuario. Entre otras pruebas se han desplegado las políticas desarrolladas en el PDP y se han realizado consultas de autorización de acceso, verificando que las respuestas son las esperadas. Esta tarea no sólo verifica los resultados anteriores sino que representa el primer paso para el desarrollo de nuevos módulos que utilicen las funcionalidades ofrecidas.

3.3. Escenario de prueba

Para terminar se ha desplegado un sistema prototipo que incluye un servidor de aplicaciones de WSO2 (WSO2 Application Server, AS), dónde estará el recurso protegido. Se realizará un intento de acceso a dicho recurso y se validará que el proceso de control de acceso se está realizando correctamente (utilizando el dialecto XSPA).

En el escenario creado, como se puede ver en la figura 2, el IS, ejerce de PAP y PDP (y por tanto será el que tome las decisiones de autorización) y por otro lado el AS, que

contiene el recurso protegido (una sencilla aplicación web), incluirá un servlet que ejerce de PEP.

Para la comunicación entre el PEP y el PDP se despliega también un componente que ejerce de proxy (Entitlement PEP Proxy). Al intentar un acceso al recurso protegido el servlet lanza una instancia del proxy para comunicarse con el IS y realizar la consulta. La figura 4 muestra el resultado del intento de acceso de un usuario que cumple las condiciones establecidas por las políticas desplegadas.

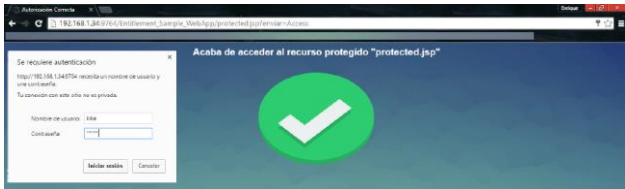


Figura 4. Resultado de un acceso autorizado en el escenario de prueba

4. Conclusiones

En este trabajo se han presentado los primeros pasos realizados para adaptar el servidor de identidad de WSO2 al dominio sanitario, conforme a lo establecido en el perfil XSPA de OASIS.

Además de conseguir reducir notablemente el esfuerzo para tener en funcionamiento una arquitectura conforme al estándar XACML/SAML y al perfil XSPA, frente a realizar un desarrollo desde cero, se consigue tener integrados estos componentes con otros muchos que ofrece la plataforma WSO2, y que podrán ser explotados en futuros trabajos de investigación.

Sin embargo la personalización de las funciones de control de acceso aún no está terminada. Entre otros aspectos hay que considerar que este directorio está pensado sólo para la información de usuario, mientras que la ACI utilizada para evaluar políticas de acceso incluye también atributos relativos al recurso o al contexto del acceso. En un escenario real y conforme completamente a XACML/SAML estos atributos deberían obtenerse a través de otros puntos de información de políticas (PIP) dedicados. Queda como línea futura la implementación de PIPs independientes para cada tipo de información.

Este trabajo se ha visto limitado por el hecho de no contemplar la modificación del código fuente de los módulos WSO2 utilizados ni la codificación de aplicaciones adicionales, tareas que serán ineludibles en las futuras investigaciones del grupo. Sin embargo ha supuesto la primera exploración de las APIs que proporcionan los componentes WSO2 para el desarrollo de módulos propios.

Es necesario recordar que el interés no es el sistema de control de acceso per se, sino el inicio de la personalización de la plataforma en su conjunto, de modo que sirva de soporte al desarrollo de nuevas facilidades y a la implementación de prototipos para validar los futuros trabajos de investigación del grupo.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Fondo de Investigaciones Sanitarias del Instituto de Salud Carlos III en el marco del proyecto DTS15/00195 (Evalua-Nefro).

Referencias

- [1] Página principal de WSO2. <http://wso2.com/>. Último acceso septiembre 2016.
- [2] Service-Oriented Architecture (SOA): Concepts, Technology, and Design. Thomas Erl. Ed. Prentice Hall. ISBN: 978-0131858589
- [3] Privilege management infrastructure for virtual organizations in healthcare grids. J. Calvillo, I. Román, S. Rivas and L.M. Roa. IEEE transactions on information technology in biomedicine, 15 (2), pp 316-23
- [4] Empowering citizens with access control mechanisms to their personal health resources. Calvillo Arbizu, J., Román Martínez, I., Roa Romero, L. M. International Journal of Medical Informatics. 2013. Vol. 82. Núm. 1. Pag. 58-72. 10.1016/j.ijmedinf.2012.02.006
- [5] How technology is empowering patients? A literature review. Calvillo Arbizu, J., Román Martínez, I., Roa Romero, L. M. Expectations. 2015. Vol. 18. Núm. 5. Pag. 643-652. 10.1111/hex.12089
- [6] Página del servidor de identidad de WSO2. <http://wso2.com/products/identity-server/>. Último acceso septiembre 2016.
- [7] Página del servidor de aplicaciones de WSO2. <http://wso2.com/products/application-server/>. Último acceso septiembre de 2016.
- [8] Página de Carbon. <http://wso2.com/products/carbon/>. Último acceso septiembre de 2016.
- [9] X.812: Information technology - Open Systems Interconnection - Security frameworks for open systems: Access control framework
- [10] X.1141. Seguridad de las telecomunicaciones. Lenguaje de marcas de aserción de seguridad (SAML 2.0)
- [11] X.1142. Seguridad de las telecomunicaciones. Lenguaje de marcas de control de acceso extensible (XACML 2.0)
- [12] Cross-Enterprise Security and Privacy Authorization (XSPA) Profile of XACML v2.0 for Healthcare Version 1.0. OASIS Standard. 1 November 2009
- [13] Cross-Enterprise Security and Privacy Authorization (XSPA) Profile of SAML v2.0 for Healthcare Version 2.0. Committee Specification Draft 01, Public Review Draft 01. 15 April 2014
- [14] Acceso on-line a las soluciones de directorio de Apache. <https://directory.apache.org/> Último acceso septiembre de 2016.
- [15] Página oficial de SoapUI. <https://www.soapui.org/> Último acceso septiembre de 2016

Competición alumnos de GIB

Jueves 24 de Noviembre

Sistema de ayuda a la decisión clínica para la evaluación de colaterales en pacientes de ictus

L. Carretero Gómez¹, B. Rodríguez-Vila^{1,2}, E. Bárcena Ruiz³, E. J. Gómez Aguilera^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, España, {lcarretero,brvila,egomez}@gbt.tfo.upm.es

² Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN)

³ Unidad de Radiología Intervencionista, Hospital Universitario de La Princesa, Madrid, España

Resumen

El ictus isquémico agudo es la enfermedad cerebrovascular con mayor prevalencia. Conlleva una disminución del flujo sanguíneo cerebral que compromete la funcionalidad del tejido y desencadena los procesos irreversibles del infarto cerebral. En el estudio de un ictus isquémico agudo se usan distintos criterios para la selección de los pacientes candidatos a tratamiento, escogiendo siempre a los pacientes con buen pronóstico; es decir, con una pequeña cantidad de tejido infartado. Uno de los criterios usados recientemente es el grado de circulación colateral. En la isquemia focal, el estrechamiento gradual de un vaso conlleva que se abran conductos colaterales, que permiten en grado variable la descarga de sangre oxigenada y el metabolismo de la glucosa.

Hasta el momento no hay un software comercial que evalúe el grado de colaterales, sino que se utilizan distintas escalas visuales basadas en la imagen de angiografía por tomografía computarizada (AngioTC). Sin embargo, la existencia de un sistema de ayuda a la decisión clínica (SADC) tendría una buena aplicación clínica, ya que la medición de las colaterales tiene una alta correlación con la evolución del paciente.

Este trabajo presenta el diseño y desarrollo preliminar de un SADC que permite automatizar la gradación de los pacientes de ictus en función de las colaterales, para ayudar a la decisión en el diagnóstico y tratamiento.

1. Introducción

Las enfermedades cerebrovasculares son todas aquellas alteraciones encefálicas secundarias a un trastorno vascular. Su manifestación aguda se conoce con el término ictus o accidente cerebrovascular (ACV) [1].

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el ictus ocupa en Europa el segundo lugar en cuanto a la carga global de enfermedad, una medida que considera la mortalidad y la discapacidad. La OMS sitúa la incidencia promedio mundial de ictus en aproximadamente 200 casos por 100.000 habitantes al año [2]. La incidencia de ictus se incrementa de forma progresiva con cada década de vida a partir de los 55 años, ocurriendo más de la mitad de los casos en pacientes mayores de 75 años.

Los ictus isquémicos representan entre el 80 y el 85% de todos los ictus, mientras que el 15-20% restante obedece a una hemorragia.

Cuando se tapa una arteria hay zonas por su territorio vascular que son menos resistentes a la isquemia y por tanto pierden antes su función y su viabilidad. Esto se define como *core* del infarto. Existen otras zonas (como se

observa en la figura 1) en las que, gracias al flujo colateral, se mantiene a las neuronas con vida durante un tiempo y, si se restaura el flujo sanguíneo cerebral a tiempo, podrán recuperar su función. Esto se denomina *penumbra*. Si por el contrario no se devuelve el flujo a la zona ocluida, esta región probablemente se incorporará al *core* y se desencadenará un infarto en todo el tejido por isquemia irreversible [3].

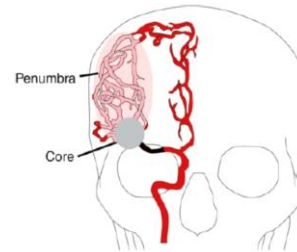


Figura 1. Distinción core y zona de penumbra en la región distal a la oclusión (en negro)

De los tres mecanismos de irrigación alternativa ante un evento vascular agudo, este trabajo se centra en las colaterales leptomeníngeas (LMCs), localizadas en los territorios vasculares frontera con la corteza.

El grado de suministro colateral a través de LMCs es importante y se correlaciona con la presencia de un volumen final de infarto más pequeño [4]. Un mejor flujo leptomeníngeo (LMF) se asocia con un menor crecimiento del infarto y un mejor resultado tras un ACV agudo, mientras una pobre circulación colateral se asocia con un peor pronóstico en la evolución del infarto [5]. Numerosos estudios, que hacen uso de varias técnicas de imagen y métodos de clasificación, sugieren que las LMCs confieren un beneficio en el ACV [6], [7].

El AngioTC proporciona una evaluación rápida de algunas variables necesarias para tomar la decisión de tratamiento, mejorando la representación y delineación del infarto, y evaluando de manera no invasiva la circulación cervical e intracraneal [8].

Se han descrito varios métodos para la evaluación de colaterales intracraneales en imágenes de AngioTC de pacientes con ACV [9]: el sistema ASPECTS, el sistema de Maas, la escala de Tan modificada y el sistema de Miteff. Solo este último ha demostrado ser un predictor fiable de un buen pronóstico en pacientes con ACV agudo,

tratados de manera intravenosa para aumentar la ventana terapéutica hasta que se decide su tratamiento intraarterial. Este sistema se basa en una escala de 3 grados que evalúa el llenado con contraste de las ramas colaterales de la arteria cerebral media (ACM) respecto a la cisura de Silvio. Estos se asignan de la siguiente forma (figura 2):

- Grado 1 - *poor*: Contraste en las ramas arteriales más superficiales y alejadas del trombo (peor pronóstico).
- Grado 2 - *moderate*: Contraste en los vasos ubicados en la cisura de Silvio.
- Grado 3 - *good*: Se reconstruyen las ramas de la zona distal a la oclusión (mejor pronóstico).

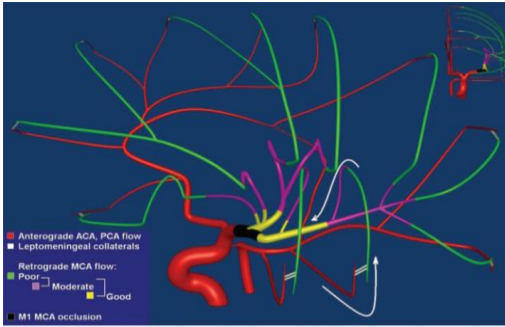


Figura 2. Flujo colateral respecto oclusión en MCA (negro). Grado 1(verde), grado 2(morado) y grado 3(amarillo)

Actualmente, en el ictus isquémico, el neurorradiólogo intervencionista debe discriminar visualmente la complejidad y malignidad de la oclusión, para determinar si el paciente es candidato a tratamiento por tener una pequeña cantidad de tejido infartado. Esto lo hace mediante la visualización del estudio de AngioTC, valorando subjetivamente el grado de circulación colateral, que le permite determinar la cantidad de tejido reperfundible.

Este trabajo propone un desarrollo preliminar de un SADC basado en la escala de Miteff sobre imágenes de AngioTC, evaluando las colaterales de forma cuantitativa mediante la reconstrucción de la intensidad de los vasos en las 3 regiones diferenciadas, con una interfaz simple y manejable para el usuario que ayuda al profesional en la toma de decisiones para aplicar el tratamiento.

2. Material y métodos

2.1. Banco de imágenes de pacientes

El banco cuenta con estudios AngioTC de nueve pacientes. Cada uno de los casos ha sido previamente evaluado por un neurorradiólogo intervencionista experto de manera visual y está graduado según la escala de Miteff. Para el desarrollo y entrenamiento del módulo se hizo uso de seis de los pacientes, dejando fuera otros tres para las pruebas y evaluación de la herramienta. La figura 3 muestra un ejemplo de distintos cortes axiales de tres pacientes, cada uno evaluado con un grado diferente en la escala Miteff. Las regiones de interés (ROI) delimitan la oclusión. En el caso A, se observa cómo no hay contraste en la cisura ni en la zona distal al trombo, asociado a un grado 1. En el caso B el contraste llega a la cisura de Silvio, pero no aparece cerca de la oclusión. Por último, en el C, se puede distinguir contraste justo en la zona distal a la oclusión, lo que conlleva un grado 3.



Figura 3. Corte axial de AngioTC de distintos pacientes. A: Miteff1, B: Miteff2, C: Miteff3

2.2. Diseño del SADC

Los requisitos y componentes del SADC se detallan en el esquema mostrado en la figura 4. En primer lugar, el SADC debe permitir la carga y visualización del estudio de AngioTC, puesto que es la base de la toma de decisión. A continuación, se llevan a cabo dos procesos independientes y que pueden realizarse en paralelo: la delimitación de la región ocupada por la lesión (el core del ictus), que sirve como base para definir las regiones de búsqueda según la escala Miteff; y el procesamiento y segmentación de la imagen con el objetivo de extraer únicamente los píxeles correspondientes al contraste en los vasos con circulación colateral. Sobre esta imagen segmentada se realiza una cuantificación del contraste radiológico en cada una de las regiones de búsqueda. En función de estos valores se asigna un grado en la escala de Miteff y, por último, se debe mostrar el resultado del SADC de una manera intuitiva.

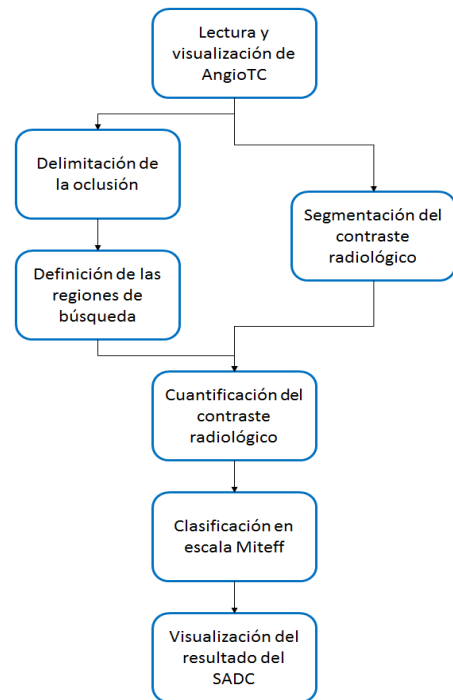


Figura 4. Diagrama del funcionamiento del módulo

2.3. Desarrollo del SADC

El SADC se ha implementado como un módulo Python de la herramienta open-source 3D Slicer [10], por lo que el módulo de carga y visualización del AngioTC queda resuelto automáticamente. La delimitación de la oclusión la realiza el neurorradiólogo de modo manual sobre la escena de 3D Slicer, creando una región de interés (ROI) del tamaño deseado, ya que este dispone de una herramienta interactiva que permite la selección dinámica

de ROIs tridimensionales sobre la imagen de estudio, variando la localización y el tamaño de las mismas.

A partir de esta ROI, la herramienta genera las regiones de búsqueda automática de contraste intravenoso, para la evaluación del flujo colateral. En lugar de definir tres regiones, una para evaluar cada grado, por consejo del neurorradiólogo intervencionista se limita a dos grandes regiones de tamaño fijo relativas a la localización de la oclusión. Estas regiones evalúan los casos de grados 2 y 3 (Miteff 2, Miteff 3), mientras que el grado 1 no tiene región de evaluación, sino que se asigna por defecto. El neurorradiólogo definió las dos regiones estándar junto con la ROI de la oclusión en la escena de 3D Slicer, para uno de los casos del banco de imágenes, en el que la oclusión se encuentra en el hemisferio derecho (figura 5).

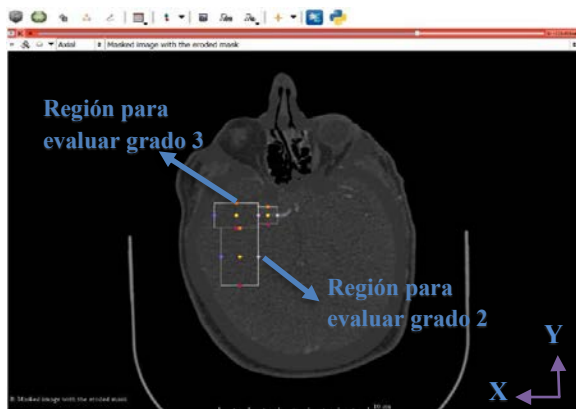


Figura 5. Vista de un corte axial con las dos regiones y la ROI de la oclusión para un paciente concreto

La región para evaluar el grado 3 (*region3*) está situada en la parte distal del trombo. Los radios en los tres ejes del sistema global ('XYZ') de *region3* son: (15, 9, 10). El módulo extrae los seis valores extremos de la ROI de la oclusión ($x_{min}, x_{max}, y_{min}, y_{max}, z_{min}, z_{max}$). El centro de coordenadas de *region3* se ubica en el mismo punto que la oclusión en el eje 'y', mientras que en el eje 'x' se sitúa sumándole a x_{max} el valor del radio, 15. En la figura 5 solo se muestra un corte axial, sin embargo, cada región de búsqueda incluye más de un corte por lo que en la dirección del eje 'z' el centro de la región se sitúa sumándole a z_{min} el radio, 10. La región para evaluar el grado 2 (*region2*) se construye a partir de los extremos de *region3* y pretende englobar la cisura de Silvio para examinar la cantidad de contraste en ella. Los radios son: (13, 21, 18). El centro de *region2* se sitúa en la coordenada 'x' resultado de sumar al extremo inferior de *region3* el valor del radio en 'x' (13), en la coordenada 'y', restando al extremo inferior de *region3* el valor del radio (21); y en la 'z' sumando al extremo inferior el valor del radio en 'z' (18).

Por tanto, la construcción de las regiones de búsqueda depende completamente de una correcta selección de la ROI de la oclusión, pero también depende del hemisferio que se vea afectado. Así, si no se tratara del hemisferio derecho, como ocurre en la figura 5, las regiones se construirían en la otra dirección del eje 'x' y por tanto las operaciones realizadas para ubicar sus centros en esta dirección serían de sustracción y no de suma. Para facilitar

esta tarea, el usuario ha de seleccionar en la interfaz del módulo el hemisferio en el que se encuentra la oclusión.

Si la oclusión está en el tramo más alejado de la ACM, las regiones podrían incluir píxeles pertenecientes al cráneo. Esto es un grave problema de cara a la segmentación de los vasos con contraste yodado, ya que el cráneo y el contraste muestran valores similares de intensidad en la imagen de AngioTC, por lo que no es directa la segmentación estableciendo umbrales de forma manual. Es necesario enmascarar la imagen para eliminar los píxeles del cráneo, de manera que al establecer los umbrales de intensidad se extraigan solo los píxeles de circulación colateral. Para ello, se construye una imagen que será utilizada como máscara, en la que el cráneo tenga valor nulo y el resto de píxeles queden etiquetados. Los umbrales utilizados son: [-1024.00, 548.37]. Esta máscara se erosiona para extender la etiqueta de valor nulo, y asegurarnos de que los píxeles que pertenecen al cráneo se eliminarán de la imagen original. Posteriormente, se enmascara la imagen original de AngioTC con la máscara construida. La figura 5 muestra la imagen AngioTC después de este proceso, donde los píxeles del cráneo aparecen con un valor de intensidad bajo. De esta imagen resultado solo nos interesan los píxeles con contraste por lo que se aplica finalmente una nueva umbralización con valores: [155,548].

Toda esta etapa está completamente automatizada en el módulo SADC, gracias al uso de la librería *Insight Segmentation and Registration Toolkit* (ITK). La imagen segmentada resultado es la utilizada para realizar la cuantificación del contraste, ya que los píxeles etiquetados pertenecen a vasos que conducen circulación colateral y mantienen la perfusión en la zona de penumbra.

El módulo cuenta con una metodología de toma de decisión que se consiguió a partir de los valores experimentales obtenidos para cada una de las seis imágenes del banco, que se observa en la Tabla 1.

Escala	Región 2	Región 3
Miteff 1	394	171
Miteff 1 Ej2	177	31
Miteff 2	4493	422
Miteff 2 Ej 2	3428	1184
Miteff 3	1036	1856
Miteff 3 Ej2	5825	2633

Tabla 1. Recuento de píxeles en cada región y caso

Se realizó una técnica de *clustering* mediante umbrales manuales, para encontrar un patrón que permitiera agrupar los casos según cierta similitud, y poder discernir el grado en la escala de Miteff. Se fijó un umbral en la región 3 de manera que, si el número de píxeles es mayor o igual que 1500, se clasifica como Miteff 3, y si es menor se sigue evaluando. En este último caso se mira el número de píxeles de la región 2; si es mayor o igual que 2000 se clasifica como Miteff 2, si no como Miteff 1.

Definida esta metodología, el módulo comprueba las cuentas en cada región en base a los umbrales y asigna un grado. Para visualizar el resultado, se construye el volumen 3D de la imagen segmentada, obteniendo el modelo de los vasos de circulación colateral. El color del nodo de visualización se establece según el siguiente código de colores: verde en caso de ser grado 3, amarillo para grado 2 y rojo para grado 1.

3. Resultados y discusión

Una vez propuesto el diseño del SADC y un desarrollo inicial, se muestran y discuten los resultados obtenidos tras evaluar cualitativamente una imagen de cada caso. Las regiones que delimitan la oclusión han sido definidas por el neurorradiólogo experto.

Clasificado como	Región 2	Región 3
Miteff 1	906	241
Miteff 2	3000	667
Miteff 3	7559	6306

Tabla 2. Número de píxeles obtenidos en cada región para cada paciente y su diagnóstico

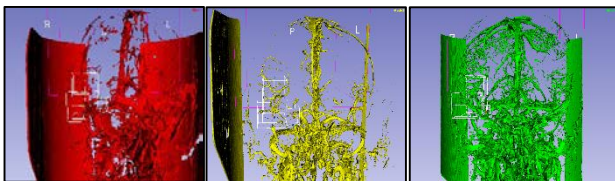


Figura 6. Modelos 3D para cada paciente. En rojo Miteff1, en amarillo Miteff2 y en verde Miteff3

Examinando el número de píxeles obtenido para cada paciente junto con el grado asignado (tabla 2), se comprueba que se ajusta con el diagnóstico establecido por el neurorradiólogo, funcionando por tanto el módulo de forma correcta y reconstruyendo los modelos como se esperaba (figura 6).

La herramienta ha funcionado correctamente en la clasificación de tres imágenes modelo de cada uno de los grados. Sin embargo, si se enfrentara con casos en los que la asignación de un grado de manera visual se dificulta, por ser ejemplos límite entre grados, podría hacerse una asignación errónea. Además, la robustez de los umbrales es bastante relativa ya que se han establecido de manera manual por trabajar con pocos casos, por lo que no se puede afirmar que la herramienta sea completamente funcional.

Por otro lado, cabe resaltar la ventaja de tener un diseño modular que permite mejorar cada una de las etapas de forma independiente sin afectar al funcionamiento de la herramienta de manera global, sino solo suponer una mejora en su rendimiento.

4. Conclusiones

Este trabajo presenta una herramienta automática de ayuda a la decisión clínica en pacientes de ictus que evalúa el grado de colaterales en la escala de Miteff a partir de una imagen de AngioTC. La herramienta desarrollada se considera un primer prototipo que cubre una necesidad de

forma correcta, pero no es una herramienta aún preparada para su uso en la clínica. Tanto el proceso de segmentación de los vasos como la técnica de *clustering* por umbrales presentan claros puntos de mejora, ya que al tener un banco de imágenes tan reducido no se ha podido establecer unos umbrales robustos, como los que se obtendrían con un estudio estadístico sobre una gran población. Sin embargo, este trabajo pretende probar con una pequeña muestra que el diseño modular planteado es correcto y permite un desarrollo funcional, y exponer la necesidad de implementarla de manera más estable, para que constituya un SADC realmente útil en situación de código ictus.

Referencias

- [1] *Estrategia en ictus del Sistema Nacional de Salud*. (2009) [online] Available at: <http://www.msssi.gob.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/docs/EstrategiaIctusSNS.pdf> [Accessed 08 May 2016]
- [2] E. Martínez-Vila, M. Murie Fernández, I. Pagola y P. Irimia. Departamento de Neurología. Clínica Universidad de Navarra. Pamplona. Navarra. España. (2011) *Enfermedades cerebrovasculares*. Elsevier Medicina, 10(72), pp.4871-4881.
- [3] Zarco L.A., González F., Coral J (2008). *Tratamiento actual del ataque cerebrovascular isquémico (ACV) agudo*. Univ. Méd. Bogotá (Colombia), 49 (4), pp. 467-498
- [4] Madrid.org. (2016). *Información Práctica - Código Ictus*. [online] Available at: http://www.madrid.org/cs/Satellite?c=CM_InfPractica_FA&cid=1354275317979&language=es&pagename=ComunidadMadrid%2FEstructura [Accessed 4 Jun. 2016].
- [5] McVerry, F., Liebeskind, D. and Muir, K. (2011). Systematic Review of Methods for Assessing Leptomeningeal Collateral Flow. *American Journal of Neuroradiology*, 33(3), pp.576-582.
- [6] Zeenat Qureshi Stroke Research Center, University of Minnesota, Minneapolis. Leptomeningeal Collaterals in Acute Ischemic Stroke (2008). *Journal of Vascular and Interventional Neurology*, 1(4), pp.91-95.
- [7] Ustrell-Roig, X. and Serena-Leal, J. (2007). Ictus. Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades cerebrovasculares. *Revista Española de Cardiología*, 60(7), pp.753-769.
- [8] Tan, I., Demchuk, A., Hopyan, J., Zhang, L., Gladstone, D., Wong, K., Martin, M., Symons, S., Fox, A. and Aviv, R. (2009). CT Angiography Clot Burden Score and Collateral Score: Correlation with Clinical and Radiologic Outcomes in Acute Middle Cerebral Artery Infarct. *American Journal of Neuroradiology*, 30(3), pp.525-531.
- [9] Yeo, L., Paliwal, P., Teoh, H., Seet, R., Chan, B., Ting, E., Venketasubramanian, N., Leow, W., Wakerley, B., Kusama, Y., Rathakrishnan, R. and Sharma, V. (2014). Assessment of Intracranial Collaterals on CT Angiography in Anterior Circulation Acute Ischemic Stroke. *American Journal of Neuroradiology*, 36(2), pp.289-294.
- [10] Fedorov A., Beichel R., Kalpathy-Cramer J., Finet J., Fillion-Robin J-C., Pujol S., Bauer C., Jennings D., Fennessy F., Sonka M., Buatti J., Aylward S.R., Miller J.V., Pieper S., Kikinis R. (2012). 3D Slicer as an Image Computing Platform for the Quantitative Imaging Network. *Magn Reson Imaging*, 30(9), pp.1323-1341.

Segmentación del nodo vesical a partir del plano transversal de imágenes ecográficas de la región suprapúbica

S. Julian^{1,2}, F. Callicó², B.F. Giraldo^{1,3,4}, A. Juanola², D. López², J. Rodiera²

¹ Grado en Ingeniería Biomédica, Escola d'Enginyeria de Barcelona Est (EEBE), Dept. ESAIL, Universitat Politècnica de Catalunya (UPC), Barcelona, España
sjulian@anestalia.com ; beatriz.giraldo@upc.edu

²Servicio de Anestesiología Centro Médico Teknon, Barcelona, Spain

³ Institut de Bioenginyeria de Catalunya (IBEC), Barcelona, España; bgiraldo@ibecbarcelona.eu

⁴ CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), España

Resumen

La retención urinaria después de una cirugía anestésica puede provocar sobre-distensión vesical, impidiendo al paciente miccionar de forma voluntaria. La cateterización es el método más utilizado para solucionar este problema. El método es aplicado cuando el volumen vesical es superior a 300 ml. En este trabajo propone un método para la binarización y segmentación del nodo vesical a partir de una imagen ecográfica de la región suprapúbica transversal. Se han analizado 180 imágenes (80 de entrenamiento y 100 de validación), segmentadas utilizando el método de nivel de gris. Las imágenes fueron caracterizadas a partir de las líneas vertical, horizontal y las dos diagonales. Los valores obtenidos fueron comparados con los medidos con el ecógrafo, con un 72% de acierto. Se ha propuesto un método radial para el cierre de aperturas lateral e interior. Ajustados el brillo y la profundidad de la imagen, y el control morfológico se obtuvo hasta un 83% de correcta segmentación del área vesical en el grupo validación de la muestra. Estos resultados son la base para el cálculo del volumen de orina en vejiga y la decisión de cateterizar un paciente con retención urinaria.

1. Introducción

Uno de los problemas que presentan los pacientes después de una cirugía anestésica es la incapacidad de miccionar de forma voluntaria. El uso de medicamentos, de la anestesia, de fluidos intravenosos entre otros, introducidos durante la cirugía son factores que pueden aumentar el volumen vesical [1]. La pérdida de esta función produce la retención de orina dentro de la vejiga, lo que puede introducir complicaciones en el proceso de recuperación del paciente. De acuerdo con la literatura, este problema presenta una incidencia de hasta un 70% en estos pacientes [1,2]. La retención de este líquido genera una presión en las paredes de la vejiga que puede producir estiramiento de sus fibras musculares. Este proceso es conocido como sobre-distensión vesical. Un prolongado tiempo de exposición puede ocasionar daños permanentes en la contractibilidad de la vejiga [2]. Cuando la micción no se produce de forma voluntaria, normalmente la eliminación del contenido de la vejiga se realiza mediante una cateterización. Este sistema consiste en introducir un catéter a través de la uretra para provocar la salida de la orina. El método es invasivo y conlleva una serie de riesgos como hemorragias por descompresión, traumas uretrales, o infecciones iatrogénicas, entre otros. Uno de los criterios clínicos utilizados para cateterizar un paciente es determinar si su volumen vesical es superior a los 300 ml de orina [2].

La palpación suprapúbica es una de las formas más comunes y rápidas para la detección del globo vesical. Este método es no invasivo pero poco preciso, especialmente en pacientes con un índice de masa corporal elevado [3]. El uso de imágenes ecográficas es otro método no invasivo utilizado en la actualidad, más fiable que el anterior, para el cálculo del volumen de orina acumulada en la vejiga [4,5]. Existen diferentes equipos médicos comerciales que trabajan con diversos planos ecográficos para reconstruir la vejiga en tres dimensiones y calcular su volumen [6].

Hoy en día el procesado de imagen es un campo esencial en el estudio y diagnóstico médico para una gran número de procesos clínicos. El uso de imágenes ecográficas es empleado en múltiples aplicaciones tales como el cálculo de lúmenes de arterias y venas o medidas fetales. Las imágenes ecográficas obtenidas de la región suprapúbica permiten extraer la información necesaria para el cálculo del volumen de orina dentro de la vejiga. La aplicación de algoritmos que permitan definir de la mejor manera posible el área de interés es cada vez más necesaria para el tratamiento de esta información.

El objetivo principal de este trabajo es la segmentación de forma automática el nodo vesical de pacientes post-quirúrgicos con problemas de retención urinaria. Se propone implementar un sistema basado en el procesado de la imagen ecográfica de corte transversal suprapúbica, para localizar y segmentar el nodo vesical. Los resultados de este proceso permiten calcular el volumen de orina de la vejiga, contribuyendo a la decisión de cateterización del paciente.

2. Metodología

2.1. Obtención de la imagen ecográfica

La vejiga se encuentra en la región suprapúbica junto con los órganos reproductivos masculinos o femeninos. Los dos planos comúnmente usados en ecografía suprapúbica son el corte transversal y el corte sagital (Figura 1). Las imágenes se obtienen utilizando un transductor convexo. En este estudio se propone trabajar con las imágenes obtenidas en el plano transversal.

La vejiga aparece en la imagen ecográfica como una zona negra o anecoica, con presencia de refuerzo dorsal de las ondas de ultrasonidos en la zona inferior, que provoca distorsión en sus márgenes. Otros elementos importantes a

considerar en la definición de la imagen de la vejiga son los ovarios (en el caso de las mujeres), también anecoicos, o la sombra acústica en los laterales del nodo vesical.

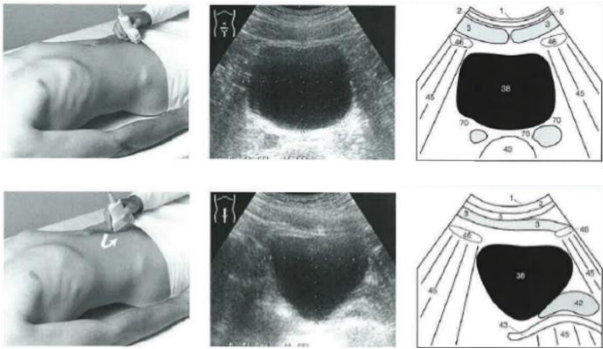


Figura 1. Ejemplo de un sistema de adquisición de imagen ecográfica y elementos anatómicos del corte transversal (arriba) y sagital (abajo) de la región suprapúbica [6]

Las imágenes ecográficas objeto de este estudio fueron adquiridas con un ecógrafo Sonosite modelo S Series, función S-Nerve [7]. Se han analizado 180 imágenes pertenecientes a una base de datos adquirida en el Centro médico Teknon, Barcelona, España. Todas las personas fueron debidamente informadas del estudio y dieron su consentimiento. El protocolo seguido para la adquisición de las imágenes consistió en colocar el transductor en la sínfisis púbica del sujeto y realizar un barrido hasta el ombligo, manteniendo la sonda con la misma inclinación durante todo el recorrido. La base de datos contiene imágenes de sujetos sanos y de pacientes.

2.2. Características de la muestra

La imagen seleccionada es aquella que muestra la mayor área de la vejiga. Para obtener la mejor calidad de la imagen, el ecógrafo permite ajustar el valor de escala de profundidad y el brillo. Estas características son almacenadas junto con la imagen, capturada en nivel de gris. La figura 2 presenta a manera de ejemplo una imagen ecográfica de uno de los sujetos objeto de estudio.

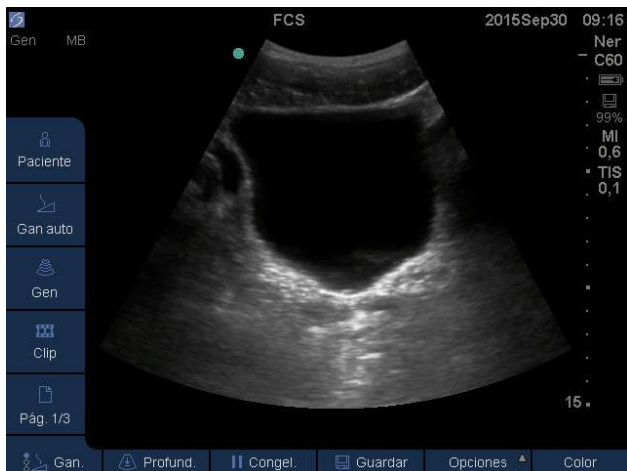


Figura 2. Ejemplo de imagen ecográfica de la muestra

3. Tratamiento de la imagen

El proceso realizado para el tratamiento de las imágenes consta de las siguientes etapas (Figura 3):

- Etapa de pre-procesado correspondiente a la obtención de la escala de profundidad y el recorte de la imagen para marcar sus límites.
- Etapa de procesado con la binarización de la imagen y la segmentación.
- Etapa de control de la morfología.

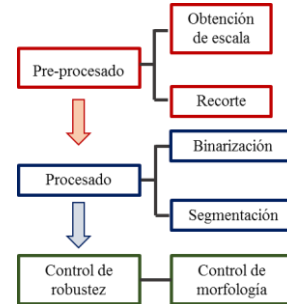


Figura 3. Etapas para el tratamiento de la imagen

Los algoritmos desarrollados para las diferentes etapas han sido implementados en Matlab ® v13.

3.1. Pre - procesado

Para determinar las dimensiones de la vejiga se obtiene la escala de profundidad de la imagen capturada. Esta información es proporcionada por el ecógrafo a la captura de la imagen. El tamaño y la morfología del área ecográfica varían en función de la escala usada en la prueba. El proceso de recorte de márgenes y eliminación de elementos que causen posibles interferencias depende del valor de profundidad con el que se ha obtenido la imagen. La figura 4 es un ejemplo de la etapa de pre-procesado.



Figura 4. Imagen ecográfica después del bloque de pre-procesado

3.2. Procesado

El objetivo de la etapa de procesado consiste en localizar y segmentar el nodo vesical de la imagen. La literatura indica que el método más común de segmentación en procesado de imagen ecográfica es el de contornos activos [9]. Se proponen dos métodos para la segmentación de las imágenes: contornos activos de Chan-Vese [10]

modificado por Yue Wu [11] y la aplicación de umbrales de gris.

El método de contornos activos trabaja localizando un punto de vista local, usando umbrales de energía de la imagen, y permite el uso de una doble máscara, que separa el nodo vesical de posibles focos de ruido. La implementación de este método requiere de un elevado número de iteraciones para conseguir una correcta detección del nodo, que implica un incremento de tiempo computacional. También puede introducir errores por efecto de la sobreexposición, o por la localización de nodos de gran tamaño. La Figura 5a presenta un ejemplo del resultado obtenido con este método en la segmentación del nodo vesical, en dos sujetos del estudio.

El método de nivel de gris se basa en el algoritmo de Otsu que determina el valor mínimo de varianza entre los canales blanco y negro [12]. Al aplicar el algoritmo de forma directa puede conllevar a errores debido al ruido *speckle*. Se aplican filtros morfológicos y frecuenciales para reducir ese ruido, y se binariza la imagen usando la mitad del umbral definido. Tras la binarización, se selecciona el nodo vesical por localización y tamaño. Este proceso es susceptible al ruido de la imagen, brillo o efecto de sobreexposición del nodo vesical. La Figura 5b presenta el resultado del método aplicado a los mismos sujetos de la Figura 5a.

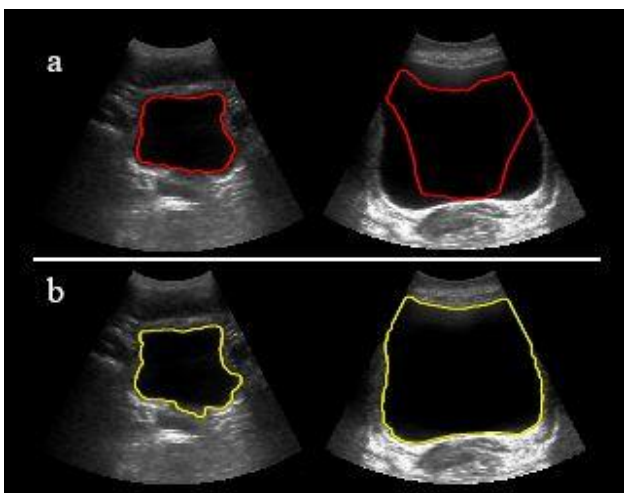


Figura 5. Segmentación del nodo vesical aplicando los métodos a) Contornos Activos, y b) Nivel de gris

En general, ambos métodos presentan problemas relacionados con elementos anatómicos o márgenes difusos por distintas causas. Dada la finalidad clínica del conjunto, y la variabilidad de características entre los distintos nodos, se seleccionó el método de nivel de gris para continuar con el estudio.

Para solucionar los problemas derivados de la presencia de ruido en el nodo, se implementó un bucle que aumenta o reduce el umbral de binarización en función de la imagen tratada. Con una imagen de referencia creada a partir de filtros morfológicos se evalúa si la región segmentada tiene un contorno estable o presenta elementos no correspondientes al nodo. En el primer caso se aumenta el umbral y en el segundo se reduce. Ambos pasos responden

a un primer proceso de binarización muy restrictivo o a la posibilidad de una imagen inicial muy oscura. Al final del proceso se realiza, a partir de filtros morfológicos, una suavización de contornos y eliminación de posibles áreas de ruido unidas a la región segmentada.

3.3. Controles de robustez

Una vez definido el contorno de la vejiga, es posible que se haya reconocido un área adicional, asociada a ruido o a elementos no pertenecientes al nodo vesical. Esta área es denominada apertura lateral. Cuando ocurre el caso contrario, que una zona del nodo vesical no ha sido reconocida durante el proceso de segmentación, se define como apertura interior. La figura 6 presenta a manera de ejemplo una imagen con apertura lateral (6a) y otra con apertura interior (6b).

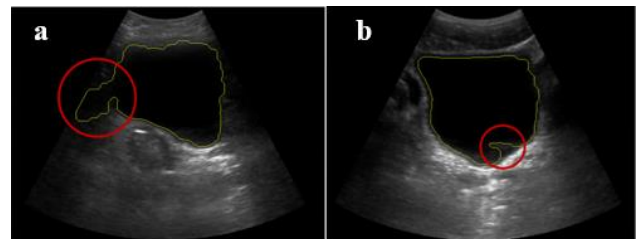


Figura 6. Segmentación vesical con a) apertura lateral, b) apertura interior

Para detectar las aperturas se propone el cálculo del radio y el ángulo de todos los puntos del contorno de la región segmentada a partir de su punto central, con precisión de un grado. La zona de las aperturas corresponderá a los ángulos que tengan asociados más de un punto del contorno. Si la región cuenta con más de una apertura, se tratarán de forma separada.

Para cerrar las aperturas se extraen dos puntos de contorno de interés, con radio similar. El cierre de la apertura se hace de forma radial, trazando una circunferencia que incluya los dos puntos obtenidos previamente. La Figura 7 presenta el proceso seguido para el cierre de una apertura lateral. El cierre de aperturas interiores se realiza de forma similar, completando el área de contorno de la figura. Al final del proceso se obtiene con mayor precisión el nodo vesical, eliminando al máximo la presencia de elementos que distorsionan la región segmentada (Figura 8).

4. Resultados

Se han analizado 180 imágenes de las cuales 80 fueron utilizadas para el entrenamiento del sistema, y 100 para la validación. Las imágenes fueron segmentadas utilizando el método de nivel de gris. Obtenido el nodo vesical y aplicado el control de contorno, se calcularon los valores correspondientes a las líneas vertical, horizontal y las dos diagonales del área segmentada. Estos valores fueron comparados con las medidas obtenidas directamente del ecógrafo. En la etapa de entrenamiento, se ajustaron los parámetros relacionados con la escala de profundidad y brillo de las imágenes, considerando vejigas de diferentes tamaño y forma. En la validación del sistema se obtuvo una segmentación correcta del 83%.

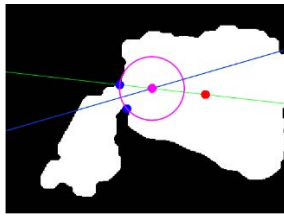


Figura 7. Procedimiento implementado para el cierre de aperturas laterales e interiores

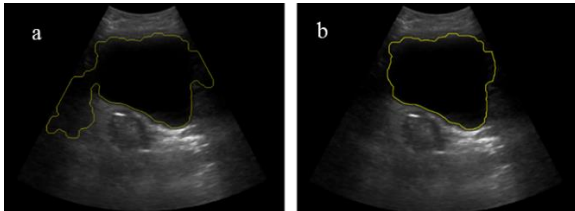


Figura 8. a) Imagen segmentada, y b) con control de morfología

En cuanto a las características vertical, horizontal y las dos diagonales, el resultado fue correcto para las cuatro medidas en un 72% de la muestra. En el caso de nodos vesicales con pequeñas aperturas laterales, una de las dos diagonales presentaba un valor superior al obtenido con el ecógrafo. Si la segunda diagonal se ajustaba correctamente, el conjunto del nodo vesical se consideraba correcto.

También se analizó el tiempo de cálculo necesario para cada proceso (Tabla 1). De acuerdo con los resultados obtenidos se considera válido el sistema diseñado para la localización y segmentación de nodos vesicales en imágenes ecográficas.

Método de segmentación	Nivel de gris
Tiempo de ejecución	3 – 4 segundos + 4 segundos por control aplicado
Resultado positivo en segmentación	80%

Tabla 1. Características técnicas del algoritmo

5. Conclusiones

Se ha propuesto un sistema para la segmentación de imágenes ecográficas de corte transversal suprapúbico, para localizar y segmentar el nodo vesical. El sistema se basa en la binarización y segmentación de la imagen. Se analizaron los métodos de contornos activos y nivel de gris, obteniéndose los mejores resultados con el método de nivel de gris. Seguidamente, aplicado el proceso de control morfológico, se obtuvo un resultado positivo en más del 80% de las imágenes analizadas.

Se ha propuesto un método que mejora los cierres de las aperturas laterales e interiores. Los resultados obtenidos al considerar vejigas de diferentes formas y tamaño hacen que el método propuesto se ajuste, mayoritariamente al tamaño real de la vejiga del paciente.

Una de las limitaciones del método propuesto es la falta o el exceso de brillo de las imágenes, la susceptibilidad del

método a la presencia de ruido *speckle*, y los márgenes difusos por ruido añadido.

El correcto ajuste obtenido de las características lineales vertical, horizontal y la diagonal mínima son la base para el posterior cálculo del volumen de orina en vejiga. El sistema propuesto puede ser una herramienta útil para ayudar a la clínica en la inclusión de pacientes en el proceso de cateterización.

Finalmente, estos resultados deberán ser evaluados con un mayor número de imágenes ecográficas de sujetos sanos y pacientes. Los resultados de la segmentación deberán ser aplicados al cálculo del volumen vesical y compararse un *gold standard* siempre que sea posible.

Agradecimientos

Los autores agradecen especialmente a los miembros del Servicio de Anestesiología del Centro Médico Teknon, y a las personas que de alguna manera han colaborado en el desarrollo de este trabajo.

Bibliografía

- [1] Baldini G, Bagry H, Aprikian A, Carli F, Phil M. Postoperative Urinary Retention. *Anesthesiology*, vol 110, 2009, pp 1139-1157.
- [2] Joelsson-Alm E. Bladder Distension: Aspects of a Healthcare-related Injury. Karolinska Institutet, Stockholm, 2012.
- [3] Alsaidi M, Guanjo J, Basheer A, Schultz L, Adbulhak M, Nerenz D, Chedid M, Seyfried D. The incidence and risk factors for postoperative urinary retention in neurosurgical patients. *Surgical Neurology International*, vol 4, 2013, pp 61.
- [4] Lamonerie L, Marret E, Deleuze A, Lember N, Dupont M, Bonnet F. Prevalence of postoperative bladder distension and urinary retention detected by ultrasound measurement. *British Journal of Anaesthesia*, vol 92, sup 4, 2004, pp 544-546.
- [5] Pavlin JD, Pavlin EG, Gunn HC, Taraday JK, Koerschgen ME. Voiding in Patients Managed With or Without Ultrasound Monitoring of Bladder Volume After Outpatient Surgery. *Anesth Analg*, vol 89, 1999, pp 90-97.
- [6] BladderScan BVI 3000 System, compañía Verathon. <http://verathon.com/bladderscan-bvi-3000> (Consultada: Marzo 2016).
- [7] SonoSite, S-Nerve. <https://www.sonosite.com/content/s-series-17> (Consultada: Marzo de 2016).
- [8] Hofer M. Curso Básico de Ecografía. Editorial Médica Panamericana, 2006 (ISBN: 9788498350166).
- [9] Noble JA, Boukerroui D. Ultrasound Image Segmentation: A Survey. *IEE Transactions on Medical Imaging*, vol 25, sup 8, 2006, pp 987-1010.
- [10] Chan TF, Vese LA. Active contours without edges. *IEE Trans Image Process*, vol 10, sup 2, 2001, pp 266-277.
- [11] Wu Y. A different interpretation of Chan-Vese active contour from the view of Optimal Global Thresholding. 2010. (Consultado: 1 de Abril de 2016).
- [12] Otsu N. A Threshold Selection Method from Gray-Level Histograms. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, vol 9, sup 1, 1979, pp 62-66.

Estudio de las causas de la hiperkalemia durante la isquemia miocárdica aguda en corazón humano mediante simulación computacional

M García-Darás¹, JM Ferrero¹

¹Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería, Univ. Politécnica de Valencia, España (cferrero@ci2b.upv.es)

Resumen

La isquemia miocárdica aguda provoca cambios electrofisiológicos que predisponen al miocardio a sufrir arritmias reentrantes potencialmente mortales. De entre estos cambios, la acumulación extracelular de K^+ (hiperkalemia) es el más proarrítmico. Aunque los experimentos confirman que la concentración extracelular de K^+ ($[K^+]_o$) puede llegar a triplicarse en los 10 minutos que siguen a la oclusión de una arteria coronaria, para llegar posteriormente a una meseta en la que permanece constante por unos minutos, las causas no son del todo conocidas. En este trabajo se ha utilizado simulación computacional para estudiar las causas de la hiperkalemia en un cardiomiocito humano aislado. Se han analizado conjuntamente y por separado seis posibles causas del fenómeno que incluyen la inhibición parcial de las tres bombas ATP-dependientes presentes en la célula, la activación de los canales de K^+ sensibles a ATP ($I_{K(ATP)}$), el aumento de la corriente tardía de sodio (I_{NaL}) y la acidosis. Los resultados muestran que la inhibición parcial de la bomba Na^+/K^+ es el factor más relevante en la hiperkalemia desde el punto de vista cuantitativo. La inhibición de la bomba SERCA, sin embargo, puede llegar a disminuir $[K^+]_o$ después de varios minutos. La activación de los canales $I_{K(ATP)}$, aun con una contribución cuantitativa muy pequeña al aumento de $[K^+]_o$, es esencial para producir su meseta. Por último, el papel de la acidosis y del aumento de I_{NaL} juegan un papel secundario. De este modo, los resultados arrojan luz sobre las causas de la hiperkalemia en isquemia aguda y sugieren potenciales tratamientos farmacológicos para combatirla.

1. Introducción

La isquemia miocárdica aguda es una condición patológica que se produce cuando se obstruye una arteria coronaria, y da lugar a una falta de aporte de oxígeno y de glucosa en los cardiomiocitos ventriculares afectados. Ello provoca un deterioro del metabolismo celular y cambios en el comportamiento eléctrico de los cardiomiocitos y en las concentraciones iónicas. Diversos estudios experimentales [1-6] han demostrado que la isquemia aguda conduce a un aumento de la concentración extracelular de potasio ($[K^+]_o$) conocido con el nombre de hiperkalemia. Durante los primeros 10 minutos de isquemia miocárdica, $[K^+]_o$ aumenta desde su valor normal hasta un nivel de meseta de entre 6-11 mmol/L por encima de su valor normal. En esta fase de meseta, $[K^+]_o$ permanece casi constante durante varios minutos y, en algunos casos, puede disminuir [7,8]. Esta evolución bifásica es cualitativamente similar en corazones de diferentes especies [2-5,9,10].

Los cambios electrofisiológicos inducidos por la hiperkalemia son determinantes en la génesis de arritmias por reentrada y en la muerte súbita cardíaca [11]. Por ello, el estudio de las causas de la acumulación extracelular de potasio durante isquemia miocárdica es de gran importancia. Sin embargo, a pesar de la importancia de la hiperkalemia, los mecanismos que la provocan son todavía inciertos. Ello se debe, en parte, a que experimentalmente no es posible aislar el efecto individual de cada posible mecanismo durante un proceso tan dinámico y tan complejo como la isquemia. Por consiguiente, el uso de modelos matemáticos, que permiten un control absoluto sobre los diferentes parámetros celulares, permitiría arrojar luz sobre las causas íntimas de la hiperkalemia.

El objetivo de este trabajo es estudiar, mediante simulación computacional, las posibles causas de la hiperkalemia durante la isquemia miocárdica aguda progresiva en un miocito ventricular humano aislado. Para ello, se han analizado conjuntamente y por separado 6 posibles causas del fenómeno: la inhibición parcial de las tres bombas ATP-dependientes presentes en la célula, la activación de los canales de K^+ sensibles a ATP ($I_{K(ATP)}$), el aumento de la corriente tardía de sodio (I_{NaL}) y la acidosis.

2. Métodos

Para simular el comportamiento eléctrico de un miocito ventricular humano en isquemia, se utilizó una versión modificada del modelo de Ten Tusscher (TT) et al. [12]. El modelo es capaz de simular el potencial de acción (PA) y las corrientes iónicas subyacentes, que incluyen I_{K1} , I_{Ks} , I_{Kr} , I_{pK} e I_{to} , las corrientes de las bombas ATP-dependientes de Na^+/K^+ , de Ca^{2+} y la bomba SERCA (I_{NaK} , I_{pCa} e I_{up} , respectivamente), la corriente del intercambiador Na^+/Ca^{2+} (I_{NaCa}), la corriente rápida de sodio (I_{Na}), la corriente de calcio tipo L (I_{CaL}) y las corrientes de fondo (I_{bNa} e I_{bCa}). La corriente I_{bNa} se asimiló a la corriente tardía de sodio (I_{NaL}) presente en los modelos más actuales. El modelo incluye también las corrientes sarcoplásmicas (I_{leak} e I_{rel}), así como el efecto de los buffers de Ca^{2+} .

Para poder simular los efectos de la isquemia miocárdica aguda, el modelo TT fue modificado mediante la introducción de los efectos del descenso de las concentraciones intracelulares de ATP y ADP ($[ATP]_i$ y $[ADP]_i$, respectivamente) y del pH intracelular sobre las corrientes iónicas del modelo. En primer lugar, se incorporó la corriente $I_{K(ATP)}$ formulada por Ferrero et al. [13,14]. En segundo lugar, se mejoró la formulación de las

tres bombas ATP-dependientes mediante la introducción de sus dependencias del ATP y el ADP intracelulares [15]. Finalmente, se mejoró la formulación de las corrientes I_{Na} e I_{CaL} introduciendo el efecto del pH [16].

Para simular la hiperkalemia mediante el modelo TT, fue necesario además modelar los cambios dinámicos de K^+ en el medio extracelular. Se introdujo así en el modelo original la ecuación:

$$\frac{d[K^+]_o}{dt} = \frac{A_m}{V_{Cleft} \cdot F} \cdot I_{K,tot}$$

donde A_m es el área del miocito, V_{Cleft} es el volumen del medio extracelular, F es la constante de Faraday y $I_{K,tot}$ es la corriente transmembrana total de potasio. Se consideró un V_{Cleft} igual al 12% del valor del volumen intracelular. El valor inicial para $[K^+]_o$ se estableció en 6.4 mmol/L.

Cada simulación consistió en un periodo de estabilización en condiciones de control de 4 minutos de duración, seguido por un aumento progresivo de las condiciones isquémicas durante el cual algunos de los parámetros isquémicos del modelo (o todos; $[ATP]_i$, $[ADP]_i$, pH) fueron variados linealmente desde sus valores de control hasta sus valores correspondientes a los 9 minutos de isquemia [16]. La simulación finalizó tras 13 minutos, por lo que se simularon 9 minutos de isquemia progresiva.

El sistema no lineal de ecuaciones diferenciales fue resuelto mediante el método de diferencias finitas con el software matemático Matlab®, utilizando la función ode15 y con una tolerancia de $1e-3$.

3. Resultados

La Fig. 1 muestra seis curvas que corresponden a la evolución temporal de $[K^+]_o$ (en mmol/L) durante los 13 minutos de simulación para diferentes combinaciones de parámetros isquémicos. La curva superior (traza I) corresponde a una situación en la que todos los parámetros isquémicos han sido variados simultáneamente. En otras palabras, la curva I representa la evolución temporal de $[K^+]_o$ que tendría lugar en una situación de isquemia real. Como se observa claramente, $[K^+]_o$ aumenta progresivamente durante 5.5 minutos tras el inicio de la isquemia, alcanzando un valor de 14.5 mmol/L (8.1 mmol/L por encima de su valor normóxico), alcanzando espontáneamente una meseta a partir de ese instante. Este resultado se asemeja perfectamente a los registros temporales de $[K^+]_o$ en la fase aguda de la isquemia [1-5,7,11].

A continuación, y antes de analizar la contribución separada de los diferentes mecanismos a la hiperkalemia, se analizó la evolución del PA durante la isquemia miocárdica “real” (es decir, con todos los mecanismos isquémicos activados – traza I en la Fig. 1). Se analizaron los PA en los cuatro instantes señalados como A-D en la Fig. 1. La Fig. 2 muestra secuencias de cuatro PAs consecutivos correspondientes a los instantes identificados por las letras A-D en la Fig. 1. Cuando la isquemia ya es severa (instante D), aparecen los característicos alternantes isquémicos en el PA (igual que en [16]) que provocan las oscilaciones en $[K^+]_o$ visibles en la traza I de la Fig. 1.

Puede observarse que la duración del potencial de acción (APD) disminuye al progresar la isquemia como consecuencia de la activación progresiva de los canales $I_{K(ATP)}$ [13,16]. En el instante A (normoxia), la APD es de 228 ms. En la fase inicial de la isquemia (B), la APD ya se ha reducido en más de un 20% (180 ms). Cerca de la meseta de $[K^+]_o$ (instante C), la APD se reduce hasta un valor de 132 ms. Finalmente, en la fase alternante (instante D), la duración de los AP “largos” es de 166 ms.

Además de la APD, existen otros parámetros en el PA que también experimentan cambios durante la isquemia miocárdica. Uno de ellos es el potencial de reposo que pasa de -82 mV en normoxia a -60 mV en el instante D. También se produce una disminución de la amplitud del potencial de acción a medida que progresa la isquemia (32 mV en normoxia, 24 mV en el instante D). Todo ello es coherente con los resultados experimentales [11] y de simulación [13,16] previos.

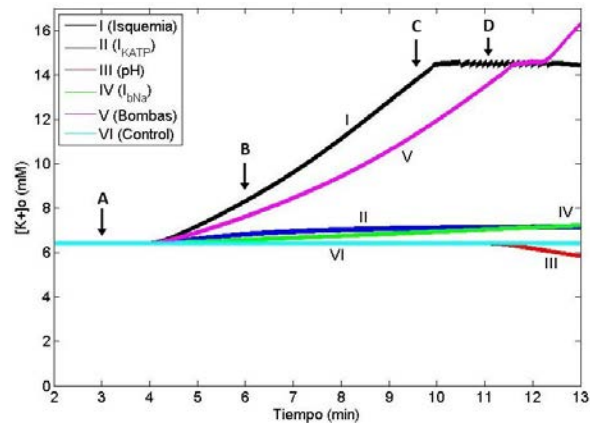


Figura 1. Evolución temporal de $[K^+]_o$ durante el periodo de normoxia (minutos 0-4) e isquemia progresiva (minutos 4-13) para diferentes condiciones de isquemia simulada.

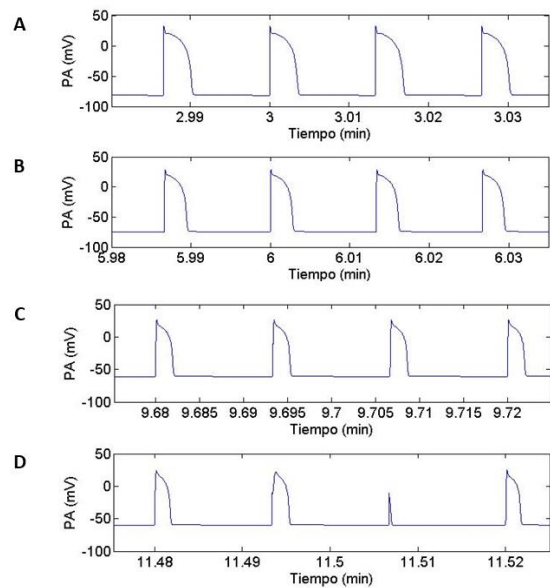


Figura 2. Potenciales de acción correspondientes a los instantes etiquetados A-D en la Fig. 1.

Una vez comprobado que el modelo reproduce correctamente los resultados experimentales, tanto en lo referente a la evolución de $[K^+]_o$ como a las características de los PA, se llevó a cabo un análisis de las posibles causas de las hiperkalemia. Volviendo a la Fig. 1, las trazas II-VI corresponden a cinco combinaciones diferentes de parámetros isquémicos. Pueden considerarse, por tanto, como simulaciones de “isquemia parcial” en la que alguno(s) de los mecanismos isquémicos se ha “desactivado” y otros permanecen “activos”. Los mecanismos “activados” en cada traza aparecen en el recuadro superior de la Fig. 1. Como se puede observar, la activación en solitario de los mecanismos de inhibición progresiva de las bombas ATP-dependientes (traza V) es, con diferencia, la que mayor aumento de $[K^+]_o$ provoca. Las trazas II (activación solamente del mecanismo de apertura de los canales $I_{K(ATP)}$) y IV (aumento progresivo de I_{NaL}) apenas alteran el valor de $[K^+]_o$. Por último, la disminución del pH en solitario no afecta a $[K^+]_o$ en los primeros 11 minutos de simulación, provocando después un ligero descenso en $[K^+]_o$ (hipokalemia).

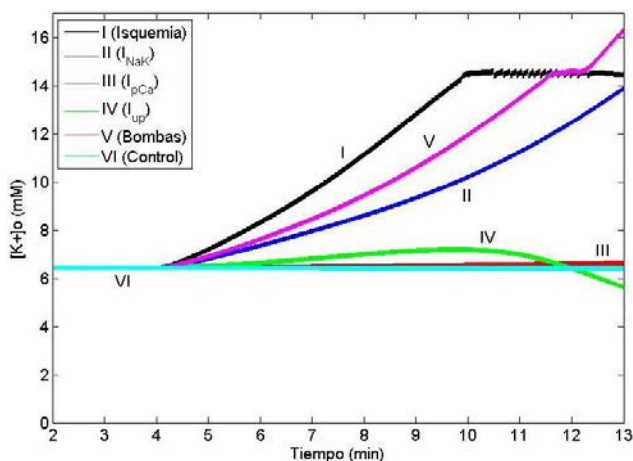


Figura 3. Evolución temporal de $[K^+]_o$ durante el periodo de normoxia (minutos 0-4) e isquemia parcial (minutos 4-13) para diferentes condiciones de inhibición de bombas.

Sin embargo, tal como se discutirá en el apartado “Discusión”, la suma de las trazas II a V no da como resultado la traza I, como se esperaría de un sistema lineal.

Con el fin de investigar el papel de cada bomba ATP-dependiente en la hiperkalemia, se llevaron a cabo simulaciones en las que se “activó” la inhibición de cada bomba por separado. Los resultados se muestran en la Fig. 3. Las diferentes trazas muestran que la bomba que más contribuye con su inhibición a la acumulación de K^+ es la bomba Na^+/K^+ (traza II). La inhibición parcial de la bomba de Ca^{2+} del sarcolema tiene un efecto despreciable (traza III), mientras que la inhibición de la SERCA (traza IV) tiene un efecto paradójicamente bifásico que se discutirá en el siguiente apartado.

4. Discusión

Aunque las causas íntimas de la acumulación de K^+ en el medio extracelular durante la fase aguda de la isquemia miocárdica no pueden ser completamente esclarecidas utilizando solo medios experimentales, las hipótesis planteadas sobre dichas causas incluyen seis posibles mecanismos [4,11]. Nuestros resultados de simulación muestran que, aunque de forma individual no todos los mecanismos reproducen una evolución bifásica de la $[K^+]_o$, la actuación conjunta de todos ellos reproduce la evolución de la concentración extracelular de potasio que se observa de forma experimental: una fase inicial de aumento rápido, seguida de una fase de meseta. Es importante tener en cuenta que $[K^+]_o$ permaneció constante durante la fase de meseta pese a seguir manteniendo la evolución de crecimiento o decrecimiento lineal de los distintos parámetros isquémicos ($[ATP]_i$, $[ADP]_i$, pH).

El análisis del efecto de los mecanismos individuales mostrado en la Fig. 1 muestra como la inhibición parcial de las bombas ATP-dependientes es claramente la que mayor efecto cuantitativo ejerce sobre la hiperkalemia. Sin embargo, en ausencia de otros mecanismos, $[K^+]_o$ continuaría ascendiendo tras una breve meseta, lo que contradice los resultados experimentales. Ello indica que el resto de mecanismos (trazas II a IV) juega un papel esencial en el mantenimiento de la meseta de $[K^+]_o$. Aparentemente, el carácter descendente de la traza III apunta a la acidosis como el mecanismo regulatorio que estabiliza el aumento de $[K^+]_o$. Siendo cierto, no resulta suficiente como mecanismo explicativo, pues la suma de las trazas II-V no da como resultado la traza I, como se esperaría en un sistema lineal. Es obvio que el sistema celular no posee linealidad. El mecanismo de activación progresiva de los canales $I_{K(ATP)}$ (traza II) y el aumento de la corriente I_{NaL} (traza IV) deben estar, por ello implicados en la génesis de la meseta a pesar de tener un peso despreciable desde el punto de vista cuantitativo. El posible papel de $I_{K(ATP)}$ discutido por Rodríguez et al. [17] en un modelo de cobaya podría explicar la meseta de igual modo en cardiomiocito humano.

El estudio presentado aquí tiene varias limitaciones. En las simulaciones se ha utilizado una versión modificada del modelo de potencial de acción humano desarrollado por Ten Tusscher en 2004 [12]. En la actualidad existe un modelo más evolucionado del PA de cardiomiocito ventricular humano desarrollado por O’Hara et al. [18] que no se ha utilizado por sus problemas inherentes para simular isquemia aguda. La utilización de un modelo mejorado basado en [18] permitiría, sin embargo, mejorar la formulación de la corriente I_{NaL} , entre otras, que en el presente estudio se ha asimilado a la $I_{b,Na}$ del modelo TT.

Por otra parte, cabe señalar que, pese a que se han analizado seis mecanismos como posibles causas de la acumulación extracelular de K^+ , podría haber otros mecanismos implicados que no han sido tenidos en cuenta en este estudio. Además, otros factores podrían verse afectados por la alteración de estos mecanismos.

Por último, no se han analizado los mecanismos iónicos implicados en el eflujo e influjo de K^+ por quedar fuera del alcance de este trabajo.

5. Conclusiones

Los resultados de las simulaciones sugieren que la inhibición parcial de la bomba Na^+/K^+ es el mecanismo de mayor peso cuantitativo en la acumulación extracelular de K^+ en isquemia miocárdica aguda, mientras que el funcionamiento bifásico de la bomba SERCA y la acidosis, de manera directa, y la activación parcial de los canales $I_{K(ATP)}$, de manera indirecta (no lineal) son los principales responsables de la meseta alcanzada por $[K^+]_o$.

Agradecimientos

Este trabajo fue parcialmente financiado por el “VI Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica” del Ministerio de Economía y Competitividad (proyecto TIN2012-37546-C03-01) y la Comisión Europea (fondos FEDER).

Referencias

- [1] Gasser RNA and Vaughan-Jones RD. Mechanism of potassium efflux and action potential shortening during ischaemia in isolated mammalian cardiac muscle. *J Physiol* 431: 713–741, 1990.
- [2] Weiss JN and Shine KI. $[K^+]_o$ accumulation and electrophysiological alterations during early myocardial ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 243: H318–H327, 1982.
- [3] Weiss JN and Shine KI. Effects of heart rate on extracellular $[K^+]_o$ accumulation during myocardial ischemia. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 250: H982–H991, 1986.
- [4] Wilde AAM and Aksnes G. Myocardial potassium loss and cell depolarization in ischaemia and hypoxia. *Cardiovasc Res* 29: 1–15, 1995.
- [5] Wilde AAM, Escande D, Schumacher CA, Thuringer D, and Mestre M. Potassium accumulation in the globally ischaemic mammalian heart: a role for the ATP-sensitive K channel. *Circ Res* 67: 835–843, 1990.
- [6] Yan GX, Chen J, Yamada KA, Kleber AG, and Corr PB. Contribution of shrinkage of extracellular space to extracellular K^+ accumulation in myocardial ischemia of the rabbit. *J Physiol* 490: 215–228, 1996.
- [7] Knopf H, Theising R, Moon CH, and Hirche HJ. Continuous determination of extracellular space and changes of K, Na, Ca, and H during global ischaemia in isolated rat hearts. *J Mol Cell Cardiol* 22: 1259–1272, 1990.
- [8] Wilde AAM, Peters RLG, and Janse MJ. Catecholamine release and potassium accumulation in the isolated globally ischemic rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol* 20: 887–896, 1988.
- [9] Sakamoto K, Yamazaki J, and Nagao T. Diltiazem inhibits the late increase in extracellular potassium maintaining glycolytic ATP synthesis during myocardial ischemia. *J Cardiovasc Pharmacol* 30: 424–430, 1997.
- [10] Sakamoto K, Yamazaki J, and Nagao T. 5-Hydroxydecanoate selectively reduces the initial increase in extracellular K^+ in ischemic guinea-pig heart. *Eur J Pharmacol* 348: 31–35, 1998.
- [11] Carmeliet E. Cardiac ionic currents and acute ischemia: from channels to arrhythmias. *Physiol Rev* 79: 917–1017, 1999.
- [12] ten Tusscher KH, Noble D, Noble PJ, Panfilov AV. A model for human ventricular tissue. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004, pp. 1573–1589.
- [13] Ferrero JM Jr, Sáiz J, Ferrero JM, Thakor NV. Simulation of action potentials from metabolically impaired cardiac myocytes: role of ATP-Sensitive K^+ current. *Circ Res*, 79(2): 208–21, 1996.
- [14] Heidenreich E, Ferrero JM, Doblaré M, Rodríguez JF. Adaptive macro finite elements for the numerical solution of monodomain equations in cardiac electrophysiology. *Ann Biomed Eng.* 38(7):2331–45, 2010.
- [15] Cortassa S, Aon MA, O’Rourke B, Jacques R, Tseng HJ, Marbán E, Winslow RL. A computational model integrating electrophysiology, contraction, and mitochondrial bioenergetics in the ventricular myocyte. *Phil Trans R Soc Lond B.*, pp 353–398.
- [16] Ferrero JM, Trénor B, Rodríguez B, Saiz J. Electrical activity and reentry during acute regional myocardial ischemia: insights from simulations. *Int J Bifurcation Chaos*, 13:3703–12, 2003.
- [17] Rodríguez B, Ferrero JM, Trénor B. Mechanistic investigation of extracellular K^+ accumulation during acute myocardial ischemia: a simulation study. *Am J Physiol, Heart Circ Physiol*, 283(2):H490–500, 2002.
- [18] O’Hara T, Virag L, Varró A, Rudy Y. Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: model formulation and experimental validation. *PLoS Comput Biol*, 7(5):e1002061, 2011.

Objective measurement of inhaler inhalation flow profile using acoustic methods

H. Lacalle^{1,2}, T. E. Taylor², S. Marco¹, R. B. Reilly²,

¹ Department of Engineering, Electronics Section, University of Barcelona, Barcelona, Spain,

hlacalmu7@alumnes.ub.edu, santiago.marco@ub.edu;

² Trinity Centre for Bioengineering, Trinity College Dublin, Dublin, Ireland, tcbe@tcd.ie

Abstract

Patients with asthma and chronic obstructive pulmonary diseases (COPD) are mostly treated with inhalers that deliver medication directly to their airways. Drug delivery from dry powder inhalers (DPIs) is very much reliant on the inhalation manoeuvre, specifically the peak inspiratory flow rate (PIFR), inspiratory capacity (IC) and inhalation rise time (IRT) of the inhalation. It has been widely reported that patients may not follow correct inhalation technique while using their inhaler. In this study, a novel acoustic method is proposed to accurately estimate inhalation flow profile using only one inhalation recording for calibration. An Ellipta DPI was placed inside an airtight container with a spirometer connected in order to measure inhalation flow parameters. An acoustic recording device (Inhaler Compliance Assessment (INCA)) was also attached to the DPI. Inhalation audio and flow signals were recorded simultaneously. The data were collected from 20 healthy subjects while performing inhaler inhalations at a range of inspiratory flow rates. A power law regression model was computed to obtain the relationship between the acoustic envelope of the inhalation and flow profile of each recording. Each model was tested on the remaining audio signals to estimate flow profile. The average estimation error was found to be $10.5 \pm 0.3\%$ for estimating flow profile from audio signals. Inhalation flow profile parameters (PIFR, IC and IRT) could then be measured from the estimated flow profile with high accuracy giving information on user inhalation technique. This method may assist in improving patient inhaler adherence and overall disease control.

1. Introduction

Asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) are respiratory diseases involving long-term inflammation of the lungs. Airways become narrowed and patients suffer from airflow limitations. In 2014, 334 million people worldwide suffered from asthma [1]. Moreover, according to the World Health Organization, COPD will become the third leading cause of mortality by 2030. Currently there is no cure available for these obstructive lung diseases, however, they may be controlled using inhalers. Inhalers deliver medication directly to the patient's lungs, reducing inflammation and dilating the airways. In order to perform correct inhalation technique using an Ellipta™ dry powder inhaler (DPI), it is essential to inhale as fast and as deeply as possible. It is recommended to reach a peak inspiratory flow rate (PIFR) above 30 L/min and ideally over 60L/min in order to remove the medication from the inhaler and deliver it effectively [2]. Moreover, the inspiratory capacity (IC) refers to the total volume of air inhaled during an inhaler

inhalation. It is also advisable to reach the recommended PIFR as fast as the patient can achieve [3]. This is referred to as inhalation rise time (IRT). These inhalation flow profile parameters (PIFR, IC and IRT) are critical as they are directly related to drug delivery from DPIs [3].

It has been widely reported in the literature that many patients (up to 70%) do not adhere to correct inhalational technique when using their inhalers [4]. Following improper treatment leads to a disease exacerbation characterized by a significant increase in the severity of the patient's symptoms. This may result in a rise in hospitalizations and even mortality rates [5]. In addition, exacerbations also result in an economical burden due to the use of emergency services, intensive care admissions and outpatient visits. There is a clinical need to remotely monitor inhaler technique, focusing on the critical step of the inhalation.

The Inhaler Compliance Assessment (INCA) device is a non-invasive acoustic recording device developed by the Neural Engineering group at the Trinity Centre for Bioengineering, Trinity College Dublin. It simply attaches to a DPI and records audio data during inhaler use. In previous studies, acoustic methods were employed to estimate PIFR and IC from inhalation audio signals recorded from the INCA device. However, these methods required numerous recordings from a cohort of participants to calibrate a model in order to estimate these flow parameters [6]. The aim of this study was to objectively measure inhaler inhalation flow profile based on only one inhalation audio recording for calibration.

2. Methods

2.1. Subjects

Data were collected from 20 healthy participants (10 male, 10 female, age range 20-29). Baseline spirometry was performed to confirm that all participants had normal lung functions in accordance with the ATS/ERS recommendations [7].

2.2. Experimental Setup

For reaching the objectives of the study, it was required to simultaneously record inspiratory audio and flow profile signals while participants performed inhaler inhalations. A customized polyethylene terephthalate airtight container was designed. A placebo Ellipta™ inhaler was placed inside the airtight container (Figure 1). The INCA

device was positioned outside of the container and on top of the Ellipta™ inhaler. A switch was wired to the INCA device to activate the device for each recording. Additionally, a Vitalograph Pneumotrac 6800 spirometer [Vitalograph, Co. Ennis, Ireland] was connected to the airtight container using a non-reusable filter to measure flow profile. Furthermore, the INCA device and the spirometer were connected to a DAQ National Instruments (NI) USB 6211 [National Instruments, Co. Austin, United States], which was connected to a data acquisition laptop. A custom designed interface was developed in the NI LabVIEW 2013 software for acquiring the synchronization of audio and flow signals at a sampling rate of 48 kHz. The spirometer was connected to another data acquisition laptop to obtain calibrated PIFR values of each recording using Spirotrac IV software [Vitalograph, Co. Ennis, Ireland].

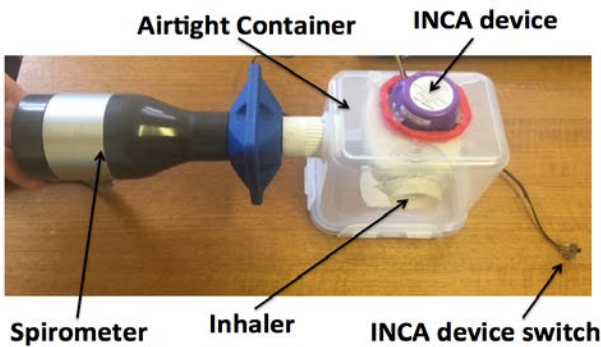


Figure 1. Photograph of the experimental setup integrating together all the devices required for the study. Each one of these devices is indicated in the figure.

2.3. Protocol Procedure

Participants were instructed to inhale through the inhaler mouthpiece at low (<50 L/min), medium (50-70 L/min) and high (maximal flow rate) inspiratory flow rates for five recordings at each flow rate. This gave a total of 15 recordings for each participant. The Spirotrac software was used to guide participants regarding their inspiratory flow rate throughout each inhalation. At the end of each recording session, the airtight container was sterilized.

2.4. Signal Processing

For each recording, data were processed using the Matlab software (Version 8.5). The DC offset was removed from the flow and audio signals by subtracting the mean of the original signal. Both signals were then down sampled to the common audio sampling frequency of 44.1 kHz. The flow signal was low pass filtered below 5 Hz and was also converted to L/min using the PIFR reference values from the Spirotrac software. The audio signals were high pass filtered above 200 Hz to remove low frequency noise.

All the audio signals were divided into 50 ms segments with 50% overlap between adjacent segments. A Hanning window was applied to each frame. The average power of each frame was computed. A threshold was defined as the average power plus three standard deviations of the background noise to automatically segment the inhalation audio and flow signals. The average maximum corresponding flow rate onset and offset threshold was

16.7 ± 5.1 L/min among all the participants as shown in Figure 2. This aimed to avoid overfitting background noise to flow when building the regression model between the acoustic and flow data.

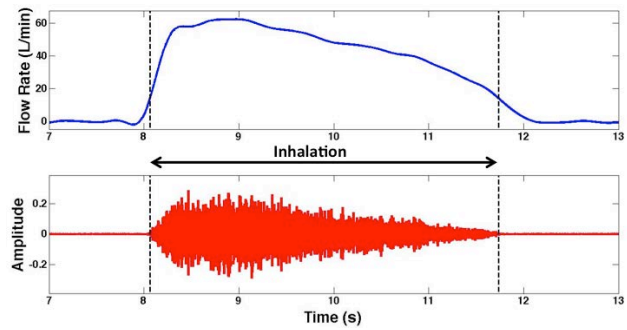


Figure 2. Calibrated flow signal (above) and audio signal (below) consisting of an inhalation using an Ellipta™ inhaler. Vertical dashed lines indicate the inhalation segment of both signals that is considered when building the flow-acoustic regression model.

The Hilbert transform was employed as an acoustic feature in this study to estimate the acoustic envelope of the inhalation sound. It has been employed in previous studies for computing the envelope of the respiratory audio signal with the aim of estimating respiratory flow parameters [8]. In the time domain, the Hilbert transform of the inhalation audio signal was calculated by convolving this original signal $x(t)$ with the function $h(t) = \frac{1}{\pi t}$. An analytic signal was constructed as follows:

$$X(t) = x(t) + i \cdot H(t) \quad (\text{Eq. 1})$$

With a real part which is the original audio signal $x(t)$ and an imaginary part which contains the Hilbert transform of the signal $H(t)$. By computing the magnitude of this analytic signal, the envelope of the inhalation audio signal was acquired. The resulting acoustic envelope was then low pass filtered with a cut-off frequency of 5 Hz.

In terms of the literature, it has already been proved that the respiratory flow-sound relationship follows a power law [9]. A power law regression model was then fitted between the calibrated flow profile signal F and the acoustic envelope E as defined in the following equation:

$$\log(F) = a \cdot \log(E) + b \quad (\text{Eq. 2})$$

Where a and b are the coefficients derived from the model. Hence, each synchronized audio and flow recording was used as calibration for 15 separate models for each subject. Depending on the inspiratory flow rate from the recording, models were categorized as high, medium or low. Each model was then tested on the remaining 14 audio signals and flow profile could then be estimated. For comparing the actual reference and the estimated flow profiles, the percentage error between each point in both flow profiles was computed and averaged over the entire set of error values giving an average percentage error for the estimated flow profile.

Furthermore, inhalation flow profile parameters (PIFR, IC and IRT) were also derived from both actual and estimated flow profiles. The actual and estimated PIFR

were calculated by computing the maximum flow rate point on the flow profile curves. Regarding the actual and estimated IC, these values were assessed by computing the area under the curve of the flow profiles using a trapezoidal integration method. The actual and estimated IRT were defined as the time at which the derivative of each flow profile was equal to 0. Finally, the percentage errors between the actual and estimated PIFR, IC and IRT were derived.

3. Results

On average, the flow-acoustic models had an $R^2 = 0.94 \pm 0.04$ ($p < 0.01$) among all subjects proving the strong correlation between flow and audio data while an inhalation was performed. It was also important to validate that the models were able to reliably estimate flow profile from audio signals. Figure 3 shows an example of an actual reference flow profile compared to the estimated flow profile.

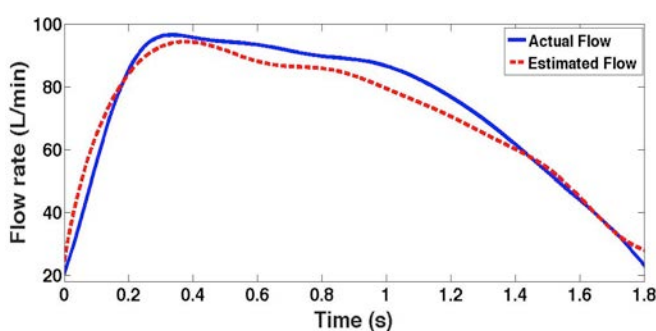


Figure 3. Estimated flow profile (dashed red line) and actual flow profile signal (blue line) of an inhaler inhalation.

The percentage error between all the data points from the actual and estimated flow profiles was computed as explained in the *Methods* section. It represents the error for estimating flow profile from audio data. Figure 4 presents this error averaged among subjects for all the combinations of models calibrated and tested at high, medium or low inhalation flow ranges.

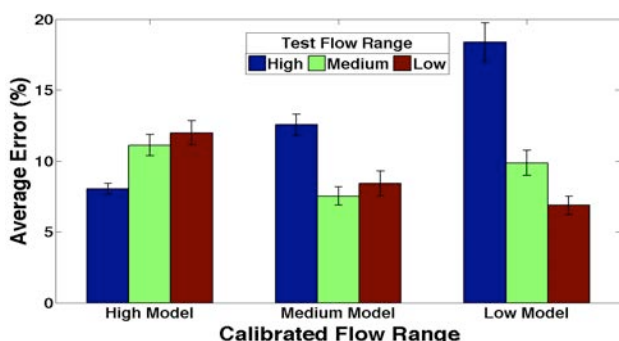


Figure 4. Bar plot representing the average error \pm standard error between the actual and estimated flow profiles for the different combinations of models calibrated using high, medium or low inhalation flow rates and tested on high, medium and low flow rate inhalations.

The results of these bar plots show an overall average error of $10.5 \pm 0.3\%$ among the 20 subjects. It needs to be stated that this estimation error agrees with what is acceptable and reliable in the literature [9]. Higher percentage error was observed when a low flow rate

inhalation was employed as calibration to estimate high flow rates. In these instances, it was observed that the flow profile was underestimated with respect to the flow profile of the base. For all the other combination of models tested at a certain flow rate inhalation, the error was between 7.5 and 12.5%.

Inhalation flow profile parameters (PIFR, IC and IRT) were also derived from the actual and estimated flow profiles. The overall average errors between each one of the actual and estimated inhalation flow parameters are presented in Table 1 across all flow ranges.

Flow Parameters	Average Error \pm SE
PIFR (L/min)	10.6 ± 0.4
IC (L)	8.3 ± 0.4
IRT (s)	28.3 ± 0.2

Table 1. Summary of the error averaged across subjects and the standard error (SE) between the actual and estimated inhalation flow profile parameters.

4. Discussion

In this study, the aim was to develop a method that could objectively measure inhalation flow profile using audio signals of inhalations. The method only requires one inhalation recording to calibrate a flow estimation model which can be used to longitudinally monitor inhalational technique remotely. It was preferable to record healthy participants rather than patients as it was required to test the method at range of inspiratory flow rates. Healthy participants had better control of inspiratory flow rates during the recording sessions. Asking a patient to inhale at different inspiratory flow rates was not considered to be feasible for this study. In addition, since patients may inhale either at high, medium or low flow rates during the course of the treatment, inhalations were recorded at all these inhalation flow ranges in order to model real patient flow profiles in a clinical setting.

The overall average error between the actual and estimated flow profile was approximately 10%. This estimation error agrees with previous acoustical flow estimation studies [9]. It should be stated that the model is sufficiently robust to estimate flow profile at different flow rates using inhalation sounds.

Regarding the PIFR and IC flow parameters, the overall estimation error was approximately 9%; which indicates that it is appropriate in this application to estimate these parameters from acoustic methods. The IRT flow parameter has a higher estimation error of approximately 28%. In terms of temporal error, this error corresponds to a difference of on average 0.16s between the actual and estimated IRT. There were a 10.67% of tests where this difference is higher than 0.4s; and it is these tests which cause an increase in the overall estimation error. In future works, the intention is to enhance the computational method to estimate this parameter.

In terms of the potential clinical applications of this study, this method may be applied immediately to patients

suffering from asthma and COPD who use inhalers on a daily basis. In previous respiratory acoustic studies the data acquisition system required numerous inhalations at different flow rates for developing the model [6, 9]. Asking patients to inhale at a wide range of flow rates may confuse regarding how they should use their inhaler. However, in the method presented, a high number of flow and acoustic data points were available from each inhalation making it possible to develop a personalized regression model from just one inhalation. In the clinical environment, the calibration inhalation could be recorded as patients are trained on how to use their inhaler. This greatly simplifies the calibration process which requires minimal work for the healthcare professional and does not require any additional task from the patient.

Subsequently, the patient would regularly use the Ellipta™ inhaler with the INCA device attached to it. When the patient returns for a consultation with their healthcare professional for their monthly lung function analysis, each inhaler inhalation sound recorded during this month would be applied to the personalized model equation in order to estimate flow profile. It is important to note that if a patient inhaled at a low inhalation flow rate when building the model and inhaled at a high flow range during the following month, the estimation error would be of 18.4% as shown in *Figure 4*. Even if this error is high, the likelihood is arguably quite low that patients with asthma or COPD inhale first at low flow rates and a short period later improve their lung function reaching high inhalation flow rates [10]. In terms of the study applications, it can be validated that the model developed is accurate to estimate flow profile in patients.

Using the method presented in this study, the healthcare professional can directly obtain the PIFR, IC and IRT parameters from all the inhalations recorded over the previous month. Inhaler flow profile parameters are linked to lung function and drug delivery. Based on the PIFR, IC and IRT values estimated, the healthcare professional can then obtain objective feedback regarding the efficacy of the patient using the inhaler treatment. In addition, during every visit, the patient could be asked to inhale again in the experimental platform in order to update the personalized regression model with a new inhalation and further enhance the accuracy of flow estimation using the INCA device.

Furthermore, a decline in the PIFR, IC and IRT optimal values over several weeks is translated into an exacerbation of the patient's disease [10]. Therefore, exacerbations may potentially be predicted by monitoring the inhalation flow profile parameters between patient's visits using the methods developed in this study. The healthcare professional may then encourage patients to improve their inhalation technique in order to achieve efficient inhaler drug delivery with the objective of reversing the effects of the exacerbation.

5. Conclusion

In conclusion, this study enabled the development of a personalized regression model that objectively estimates flow profile based on inhaler inhalation sounds. The

novelty of this study is that only one inhalation is required to build the personalized flow estimation model. Additionally, inhalation flow profile parameters may be derived with high accuracy. These flow parameters are directly related to drug delivery in DPIs and also respiratory health. Such measurements would provide objective feedback to healthcare professionals regarding patients' inhaler user technique longitudinally. It may be stated that a remote monitoring system has been created which may potentially predict asthma and COPD patients' disease exacerbation. This would enable the prevention of hospitalizations and even death resulting in a positive impact on patients' health.

Acknowledgment

I would like to thank the organizers of CASEIB 2016 for giving me the opportunity to present my Final Thesis project at such a prestigious congress. I would also like to thank the Faculty of Medicine of the University of Barcelona for giving me a scholarship to attend the congress. Finally, I would like to express my sincere gratitude to the members of the Neural Engineering Group of the Trinity Centre for Bioengineering for all the guidance and continual help provided during the project.

References

- [1] Global Asthma Network, "The Global Asthma Report 2014," Auckland, New Zealand, Mar 2015.
- [2] R. A. Pauwels and K. F. Rabe, "Burden and clinical features of chronic obstructive pulmonary disease (COPD)," *The Lancet*, vol. 364, pp. 613-620, Aug 2004.
- [3] W. Azouz and H. Chrystyn, "Clarifying the dilemmas about inhalation techniques for dry powder inhalers: integrating science with clinical practice," *Primary Care Respiratory Journal*, vol. 21, pp. 208-213, Feb 2012.
- [4] A. S. Melani, *et al.*, "Inhaler mishandling remains common in real life and is associated with reduced disease control," *Respir Med*, vol. 105, pp. 930-938, Jun 2011.
- [5] S. Newman, "Improving inhaler technique, adherence to therapy and the precision of dosing: major challenges for pulmonary drug delivery," *Expert Opin. Drug Deliv.*, vol. 11, pp. 365-378, Jan 2014.
- [6] M. S. Holmes *et al.*, "A method of estimating inspiratory flow rate and volume from an inhaler using acoustic measurements," *Physiol. Meas.*, vol. 34, pp. 903-914, 2013.
- [7] M. R. Miller, J. Hankinson, *et al.*, "Standardisation of spirometry," *Eur Respir J*, vol. 26, pp. 319-338, Aug 2005.
- [8] C. Que, C. Kolmaha, L. Durand, S. Kelly, P. Macklem, "Phonospirometry for noninvasive measurement of ventilation: methodology and preliminary results," *J. Appl. Physiol.*, vol. 93, pp. 1515-1526, Oct 2002.
- [9] I. Hossain and Z. Moussavi, "Respiratory airflow estimation by acoustical means," proceedings of the *IEEE 2nd Joint EMBS/BMES Conference*, Houston, TX, USA, vol. 2, pp. 1476-1477, Oct 2002.
- [10] M. E. Broeders, *et al.*, "The course of inhalation profiles during an exacerbation of obstructive lung disease," *Respiratory Medicine*, vol. 98, pp. 1173-1179, Dec 2004.

Medida de la frecuencia dominante en registros eléctricos auriculares mediante filtrado convolucional

J. de la Torre Costa¹, M.S. Guillem¹, A.M. Climent², M. Rodrigo¹

¹ ITACA, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, jadela7@etsii.upv.es

² Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España

Resumen

Una técnica eficaz para el tratamiento de la fibrilación auricular (FA) consiste en la ablación de las regiones auriculares con una frecuencia de activación más elevada, responsables del mantenimiento del proceso fibrilatorio. Sin embargo, no existe consenso en cuanto al tipo de preprocesado a utilizar para el cálculo de frecuencias dominantes (FD) en los diferentes tipos de registros clínicos. Este trabajo se propone un nuevo filtrado basado en la convolución temporal cuya eficacia en la detección de FDs se ha testado utilizando simulaciones de la actividad eléctrica auricular, de las que se han obtenido señales de electrograma, electrocardiografía por imagen y potenciales de acción, añadiendo diferentes niveles de ruido. Los resultados obtenidos se han comparado con otros procedimientos ampliamente utilizados: Botteron y filtrado paso banda. Se ha demostrado que el procedimiento planteado presenta mejores resultados que los métodos anteriores para los diferentes tipos de señales, además de presentarse como el más robusto ante la introducción de niveles crecientes de ruido. El filtrado convolucional se postula por tanto como una técnica eficaz y versátil para el cálculo de FDs en los diferentes escenarios clínicos de diagnóstico y tratamiento de FA.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es el tipo de arritmia cardíaca más frecuente, caracterizada por una propagación irregular de la actividad eléctrica por el tejido auricular que reduce la función mecánica de las aurículas. Este descontrol de la actividad eléctrica tiene origen en regiones cuya frecuencia de activación es más elevada y juega un rol importante en el mantenimiento del proceso fibrilatorio [1]. Los registros de la actividad eléctrica auricular en corazones explantados mediante la técnica de mapeo óptico han permitido demostrar que las regiones activadas más rápidamente son las causantes de la FA [2], mediante la medida de su ritmo de activación.

Se ha demostrado que la ablación de las regiones auriculares activadas a frecuencias más altas es igual de eficaz que el tratamiento habitual de aislamiento de las venas pulmonares y además es más seguro [3]. Para la localización de estas regiones dominantes se suele realizar un registro con un catéter intracavitario que registra la señal de diferentes regiones auriculares. A partir de estas señales se puede determinar la tasa de activación de dicha región mediante el cálculo de la Frecuencia Dominante (FD), que indica el número de activaciones por segundo. La identificación de la FD se suele realizar mediante un análisis espectral para lo cual es necesario un preprocesado

de la señal que permita la correcta identificación de la FD. Uno de los métodos más empleados son el filtrado paso banda o el filtrado de Botteron et al [4].

Existen también métodos no invasivos para la detección de las FD auriculares [5-6]. Estos métodos utilizan la señal registrada en el torso del paciente para, mediante la Electrocardiografía por Imagen (ECGI), reconstruir los potenciales auriculares sobre los que se pueden identificar los ritmos de activación. No obstante, actualmente no existe un consenso científico sobre que metodología se debe adoptar para el cálculo de la FD, debido a que los métodos existentes responden a las necesidades individuales de cada tipo de registro. Además, es importante saber que los estudios de análisis espectral no son inequívocos y pueden presentar fallos [7] lo que motiva a realizar una evaluación y mejora de algunos de los mismos. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es proponer un nuevo tipo de filtrado para el cálculo de la FD basado en la convolución temporal que mejore los resultados de los métodos actuales y permita su uso en diferentes tipos de registros de señal auricular.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Este trabajo utiliza modelos matemáticos de la actividad eléctrica auricular para la obtención de los diferentes tipos de señal eléctrica. Concretamente, se ha utilizado un modelo anatómicamente realista compuesto por 285.780 nodos en los que se ha resuelto el modelo matemático que define la actividad eléctrica auricular [6]. Del conjunto total de nodos, se han seleccionado 64 señales individuales correspondientes al potencial transmembrana o potencial de acción (PA) que se han utilizado para la detección de FD por su similitud con los registros de mapeo óptico. Adicionalmente, para cada simulación se han obtenido 64 electrogramas (EGM) unipolares calculados a 1 mm de la pared auricular, simulando los registros que se obtendrían con un catéter intracavitario. Por último, se han utilizado los EGM simulados en la totalidad de la superficie auricular para obtener la señal de ECG sobre un modelo de torso humano, y posteriormente esta señal superficial para volver a obtener de manera no invasiva los potenciales eléctricos auriculares mediante ECGI en los mismos 64 puntos de la aurícula [6].

Se han utilizado simulaciones de la actividad eléctrica auricular con una frecuencia de estimulación de 2.5, 5.5,

6.24 y 8 Hz para cada uno de los tres tipos de registros mencionados: PA, EGM y ECGI. Además, también se ha estudiado el efecto del ruido eléctrico sobre los resultados obtenidos. Para ello, se han añadido diferentes niveles de ruido blanco gaussiano (10%, 50%, y 100%) a las señales bajo estudio.

2.2. Métodos

Para la obtención de la FD de las señales registradas, es necesario que previamente a la transformada de frecuencia de Fourier (FFT) se aplique un filtrado temporal que permita identificar el ritmo de activación, y no uno de sus armónicos o subarmónicos. En este trabajo se han utilizado los dos métodos de filtrado habitualmente empleados en la práctica clínica, esquematizados en la Figura 1. El primero de ellos es el preprocesado propuesto por Botteron et al., que consiste en un filtro paso banda entre 40-250Hz, seguido del rectificado de la señal (valor absoluto) y un filtro paso bajo con 20Hz de frecuencia de corte [4]. El segundo método propuesto consiste en un filtrado paso alto con una frecuencia de corte de 2 Hz seguido de un filtrado paso bajo con una frecuencia de corte de 16 Hz [5].

Adicionalmente a los métodos propuestos en la literatura, este trabajo presenta un nuevo tipo de filtrado temporal basado en la convolución de las señales obtenidas con los dos filtrados anteriormente descritos. Puesto que la convolución en el dominio temporal es equivalente a la multiplicación de ambos espectros en el dominio frecuencial, la transformada en frecuencia del filtrado convolucional se obtiene mediante la siguiente fórmula:

$$F[f * g] = \sqrt{2\pi}(F[f]) \times (F[g])$$

Una vez procesadas las señales con las tres metodologías propuestas, se procedió a identificar la FD como la frecuencia a la que la contribución de la densidad espectral de potencia es mayor tras la aplicación del periodograma de Welch (65536 puntos, 80% de solapamiento, resolución espectral 0.001 Hz). Todos los filtros empleados han sido tipo Butterworth de orden 10.

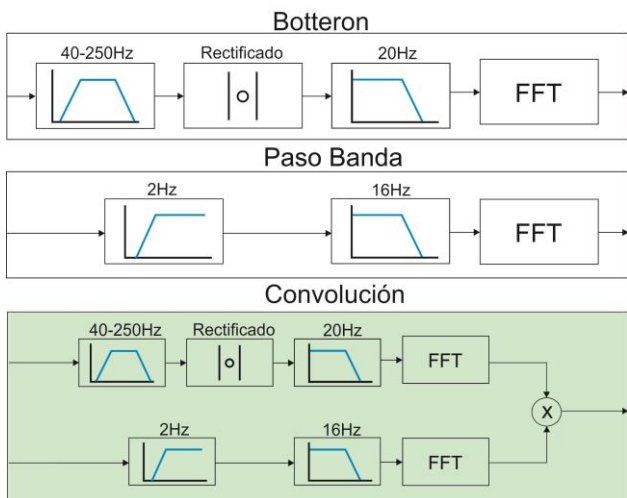


Figura 1. Funcionamiento en diagrama de bloques de los tres métodos empleados para el estudio. Se muestran el preprocesado Botteron, paso banda y filtrado convolucional respectivamente.

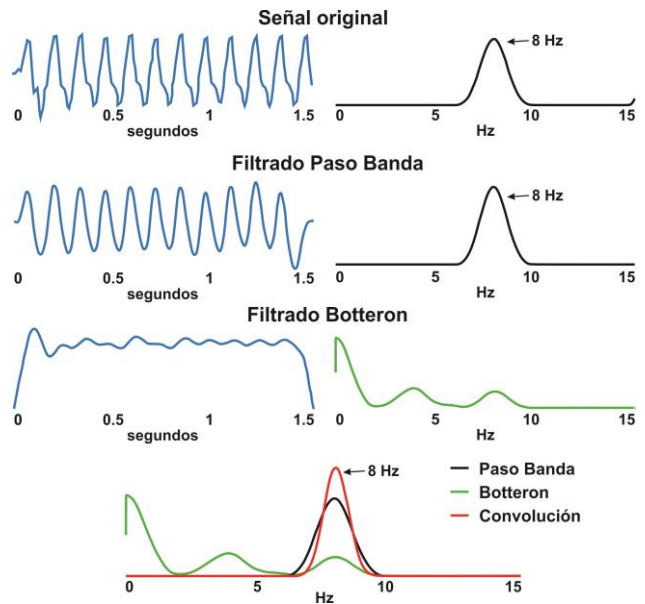


Figura 2. Ejemplo del funcionamiento del filtrado para la obtención de la FD con una señal de EGM de 8Hz. Se muestra la señal original, las señales procesadas y los espectros de las mismas.

3. Resultados

3.1. Identificación de la frecuencia dominante

Se ha observado que el preprocesado Botteron y paso banda no resultan óptimos para el cálculo de FDs en ciertos tipos de señales. En la Figura 2 podemos observar un ejemplo del cálculo de FD para una señal EGM con un ritmo de activación de 8 Hz. La transformada en frecuencia de la señal original sin ningún tipo de filtrado (panel superior derecho) muestra la contribución dominante a la frecuencia de 8 Hz. Esta distribución espectral es muy similar a la obtenida tras el filtrado paso banda, ya que la banda entre 2 y 16 Hz permanece inalterable, lo que permite identificar correctamente el ritmo de activación de la señal. No obstante, el filtrado de Botteron proporciona una señal que, aunque oscila a un ritmo de 8 Hz, su transformada en frecuencia muestra la contribución dominante en el subarmónico de 4 Hz. El filtrado convolucional (panel inferior), obtenido a partir de los dos filtrados anteriores, sin embargo, muestra una distribución espectral con la contribución dominante a 8 Hz, lo que permite la correcta identificación frecuencial. Nótese que el filtrado convolucional, al ser el producto de las contribuciones de los dos filtrados anteriores, solo presenta contribuciones espectrales cuando estas aparecen tras los dos filtrados paso banda y de Botteron.

Sin embargo, hay casos en los que el filtrado de Botteron es especialmente necesario. En la Figura 3 se puede observar un ejemplo para una señal obtenida mediante ECGI con un ritmo de activación de 2.5 Hz. En este caso, la transformada en frecuencia de la señal original proporciona una densidad espectral de potencia en la que los armónicos de la FD (2.5 Hz) tienen mayor contribución que la frecuencia fundamental. Lo mismo sucede cuando aplicamos el filtrado paso banda, ya que aunque la morfología de la señal se altera, el contenido espectral en la banda de 2 a 16 Hz permanece inalterado.

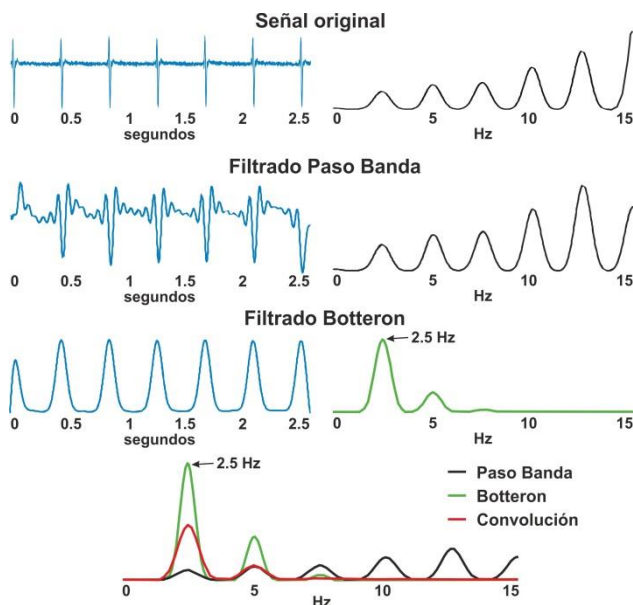


Figura 3. Ejemplo del funcionamiento del filtrado para la obtención de la FF con una señal de ECGI de 2.5Hz. Se muestra la señal original, las señales procesadas y los espectros de las mismas.

En ambos casos la identificación de la FD se realiza de manera incorrecta a una frecuencia superior a la real y coincidente con un armónico (12.5 Hz). Esta contribución de los armónicos se debe en gran medida a la morfología abrupta de la señal, donde la mayor parte de la energía se concentra en cortos intervalos temporales. Sin embargo, en este caso se puede ver que el filtrado de Botteron es capaz de proporcionar una transformada en frecuencia cuya contribución principal es a 2.5 Hz. Esto se debe a que este filtrado proporciona una señal temporal de aspecto sinusoidal, cuyos picos coinciden con las activaciones de la señal original. En este caso el filtrado convolucional, al ser el producto de los dos filtrados anteriores, proporciona una transformada en frecuencia en la que los armónicos se han suprimido y la FD se puede identificar correctamente.

En la Figura 4 se pueden observar los errores cometidos en la identificación de la FD para la base de datos completa (PA, EGM y ECGI) considerando los 3 métodos estudiados. Se observa que la FD de señales de PA es fácilmente identificable, ya que el error cometido por los tres métodos está alrededor de 0.1 Hz, siendo el filtrado paso banda el que muestra el menor error. Sin embargo, en el caso de señales de EGM y ECGI el filtrado paso banda proporciona medidas con grandes errores (alrededor de 2 Hz), y en ambos casos las medidas de FD realizadas mediante el filtrado convolucional presentan el menor error, alrededor de 0.1 Hz.

3.2. Comportamiento ante la presencia de ruido

La Figura 5 muestra los errores cometidos al identificar la FD en presencia de ruido eléctrico. En el caso del potencial de acción, se puede observar que el filtrado convolucional proporciona errores bajos (0.1 Hz) y similares a los otros tipos de filtrado, excepto para el escenario más ruidoso en el que el filtrado de Botteron presenta un error considerablemente alto. En las señales

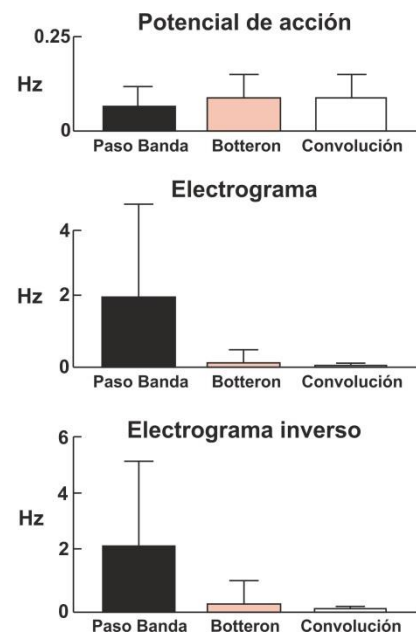


Figura 4. Error medio en el cálculo de la FD en el conjunto de señales para los tres tipos de registros y para los tres métodos de filtrado.

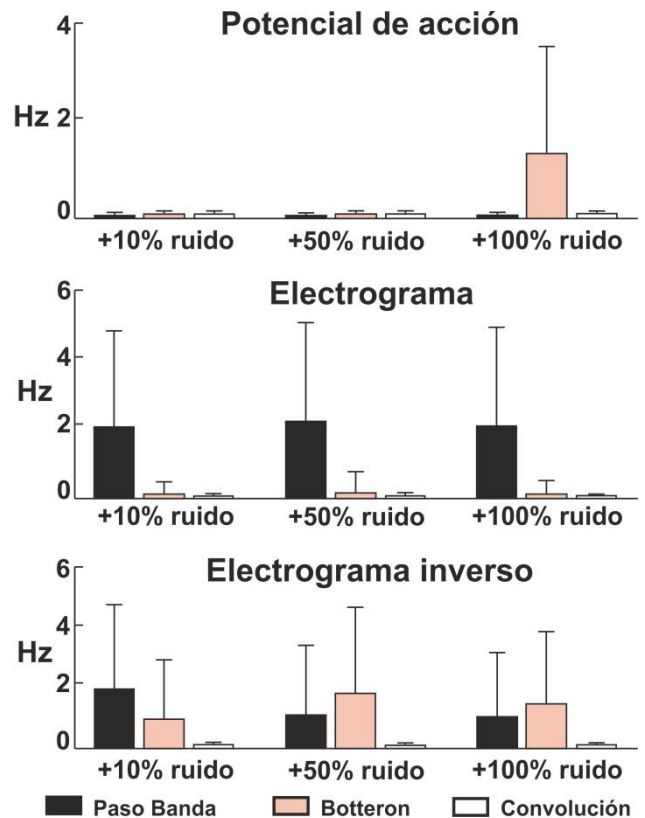


Figura 5. Efecto del ruido sobre el error en el cálculo de la FD para los diferentes tipos de registros y métodos de filtrado.

de EGM el filtrado convolucional también se presenta como la mejor alternativa, ya que el error cometido es estable y el más bajo para todos los escenarios de ruido. Por último, la utilidad del filtrado convolucional se observa claramente en las señales de ECGI, en las que los filtrados paso banda y Botteron proporcionan errores considerablemente altos (>1 Hz) mientras que el filtrado convolucional permanece por debajo de 0.2 Hz.

Por último, se procedió a calcular la tasa de acierto para los diferentes métodos, considerando que la FD estuvo correctamente calculada cuando el error en la detección era inferior a 0.2 Hz (Figura 6). En este caso se puede comprobar como la tasa de acierto del filtrado convolucional es cercana al 100% en la mayor parte de los escenarios y además es la más alta prácticamente todos los escenarios posibles. Nótese que aunque los filtrados paso banda y Botteron presentan buenos resultados en ciertos escenarios, ambos métodos presentan tasas de acierto que en algunos casos descienden a valores cercanos al 60%, mientras que el filtrado convolucional permanece para todos los escenarios por encima del 95% de acierto.

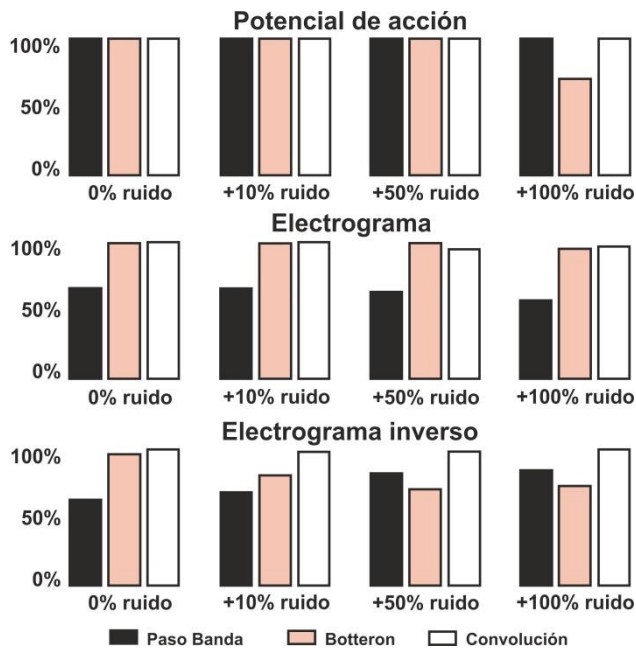


Figura 6. Efecto del ruido sobre la tasa de acierto en el cálculo de la FD para los diferentes tipos de registro y métodos de filtrado.

4. Discusión

En este estudio se analiza el comportamiento de algunos de los métodos empleados para el estudio de FDs ante diferentes tipos de señales, así como su robustez ante la incorporación de diferentes niveles de ruido, habitual en las señales clínicas. Además se propone la mejora de los algoritmos existentes mediante el filtrado convolucional.

Se ha demostrado que el filtrado convolucional presenta mejores resultados en la identificación de la FD para los tres tipos de registros analizados, siendo estos los más utilizados en el diagnóstico y terapia de pacientes con FA. Además, para todos los casos estudiados el método de la convolución se mantiene con niveles de error mínimos ante los incrementos en los niveles de ruido, a diferencia de los filtrados paso banda y Botteron.

La efectividad del filtrado convolucional se basa en la identificación de la potencia espectral únicamente en aquellas bandas en las que los otros dos métodos coinciden, descartando por tanto aquellas contribuciones espectrales que solo aparecen tras uno de los dos filtrados. De esta manera, el filtrado propuesto es capaz de igualar

los resultados obtenidos por el mejor de los dos tipos de filtrado, mejorando por tanto la detección global obtenida con cualquiera de los dos métodos utilizados en la convolución. Este trabajo es por tanto altamente susceptible de ser mejorado mediante el uso de más metodologías de filtrado temporal, o mediante el uso combinado de diferentes métodos de registros, como el filtrado convolucional entre señales unipolares y bipolares obtenidas con el mismo catéter.

5. Conclusión

Se ha comprobado que tanto el preprocesado de Botteron como el filtrado paso banda presentan un funcionamiento sub-óptimo con ciertos tipos de señales mientras el método convolucional propuesto consigue mejorar los resultados para todas las morfologías analizadas (EGM, ECGI y PA) además de mantenerse robusto ante la introducción de ruido. El método propuesto se presenta como una herramienta versátil y eficaz que puede incrementar el uso del análisis de FDs en la práctica clínica al eliminar la dependencia actualmente existente entre el tipo de registro y el filtrado a utilizar.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en parte por la Generalitat Valencia a través de su programa ACIF/2013/021 y por las becas de prácticas Santander CRUE-CEPYME SS34946-001.

Referencias

- [1] Sanders P, Berenfeld O, Hocini M, et al. Spectral analysis identifies sites of high-frequency activity maintaining atrial fibrillation in humans. *Circulation*, vol 112, sup 6, 2005, pp 789-97
- [2] Zlochiver S, Yamazaki M, Kalifa J, Berenfeld O. Rotor meandering contributes to irregularity in electrograms during atrial fibrillation. *Heart Rhythm*, vol 5, sup 6, 2008, pp 846-54
- [3] Atienza F, Almendral J, Ormaetxe JM, et al. Comparison of radiofrequency catheter ablation of drivers and circumferential pulmonary vein isolation in atrial fibrillation. A noninferiority randomized multicenter RADAR-AF Trial. *J Am Coll Cardiol*, vol 64, sup 23, 2014, pp 2455-67
- [4] Botteron GW, Smith JM. A technique for measurement of the extent of spatial organization of atrial activation during atrial fibrillation in the intact human heart. *IEEE Trans Biomed Eng*, vol 42, sup 6, 1995, pp 579-86
- [5] Guillem MS, Climent AM, Millet J et al. Noninvasive localization of maximal frequency sites of atrial fibrillation by body surface potential mapping. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, vol 6, sup 2, 2013, pp 294-301
- [6] Pedrón-Torrecilla J, Rodrigo M, Climent AM, et al. Noninvasive estimation of epicardial dominant high-frequency regions during atrial fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol*, vol 27, sup 4, 2016, pp 435-42
- [7] Elvan A, Linnenbank AC, van Bommel MW, et al. Dominant frequency of atrial fibrillation correlates poorly with atrial fibrillation cycle length. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, vol 2, sup 6, 2009, pp 634-44

Design of a wireless, standard-based patient monitoring system for operating rooms

A. Villalobos Cervantes, J.M. Del Álamo Ramiro

¹Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, Spain.

Summary

In the last decades, IT has brought several successful innovations into the healthcare field, such as wearable devices or hospital information systems. However, IT adoption in surgical environments has followed a slower pace. In this kind of interventions, the large number of wired monitoring equipment limits the efficiency and movements of surgical staff in the room. Therefore, wireless intercommunication between these devices has become a priority.

This paper proposes a solution to these needs, and describes the design of a system that uses wireless technologies to collect data from different monitors and display physicians an integrated vision of the patient's status. Finally, a functional prototype was developed to validate the proposed design.

1. Introduction

Nowadays, operating rooms represent one of the most complex structures in the infrastructure of a hospital. They are frequently overcrowded by support and aid systems, which also may change depending on the procedure. Among them, patient monitoring devices stand out due to their crucial role. These systems present a continuous stream of data of the patient hemodynamic, respiratory and electrophysiological signs. All of them work as standalone devices, displaying information separately. However, together they provide the medical staff a complete and accurate vision of the patient status.

Due to the increasing number of devices, two different issues have arisen. Firstly, this equipment places in the surgical room an excessive amount of wiring, which affects to staff mobility and patient collocation. Secondly, the presence of multiple and diverse monitoring devices results in medical data fragmentation. Specialists are forced to focus on numerous screens and keep attention away from other tasks. In consequence, this lack of integration and patient data centralization reduces efficiency and safety of the surgical procedure.

In this paper we propose a system which retrieves data from multiple and heterogeneous monitors, and integrates and displays that information in a single graphic interface. Moreover, the system also integrates information from the patient health record and logs all the data for further processing, while reducing the wiring of the operating room.

This way, the proposed system provides a fast and simultaneous access to all the initially fragmented information, and facilitates a continuous control of the patient signs during the surgery.

The contributions presented here has been elaborated as part of a final degree project, conceived from the observation of functioning operating rooms during an internship of one of the authors. Its scope includes the description of the whole system architecture and main components, as well as the development of an initial prototype that validates the mentioned functional requirements.

In addition to the described functionality, and due to the critical nature of its final purpose, it is required that the system meets important non-functional requirements. Throughout this article, the implementation of some of these requirements is discussed, such as: reliability, security, availability, interoperability, etc.

The rest of the paper is structured as follows. In the second section we present related work, emphasizing research that focused on certain technologies or fields of interest, and other proposed solutions for the described problem. Then, we present the system design and architecture in section three, and in section four we describe the validation prototype. Finally, in section five we discuss the system limitations, and in section six we summarize the main contributions and future work for this solution.

2. Related Work

Recent developments, driven by both academic and industrial research, are progressively expanding the applicability of IT innovations to surgical environments. Some of these proposals are focused on the complete transformation of the clinical unit, including an integrated wireless system. Nevertheless, these changes are frequently unacceptable due to previous investments.

Other solutions are based on the centralization of Audio-Video or image devices, setting aside patient monitors. On the contrary, the proposed system is flexible enough to target any equipment, providing with a common environment thanks to the use of specific adapters for each type of device and standards for data modeling and transmission.

The current evolution of IT architecture design and the development of new integration tools and standards have allowed the formulation of new research lines in this direction. For example, the analyses performed by Trigo et al. [2] and Frehill et al. [3] are worthy of attention. The investigations performed by Trigo et al. explore the possibilities of the new standard IEEE-11073 applied to real-time transmission of one medical signal, but does not

outline the development of an architecture which integrates signals from multiple devices. On the contrary, Freehill et al. propose the design of a Zigbee-based high level architecture which interconnects different monitors, but without using any standard for data transmission and modeling. The solution proposed in this paper represents a further step to link both research lines, and to incorporate the best of each.

2.1. IEEE-11073

Generally, health devices present specific and protected communication protocols. The existence of these different mechanisms makes harder to achieve interoperability between them.

In response, the standard data format IEEE-11073 [10] has been developed. This standard has been designed to enable interoperability between distributed systems, and it stands out for its extensibility.

IEEE-11073 is structured in three layers [7], which are represented in Figure 1:

- **Physical Level:** transport layer which defines the communication protocol. There are different implementations depending on the used technology, such as Bluetooth and Wifi.
- **Service Level:** layer which defines the system model and provides the system with codification of messages/packages and management of the connection between the parties involved.
- **Data Format Level:** layer which describes the data characteristics (type, structure, format) and treatment, depending on the device. Nowadays there are multiple specializations (IEEE-11073-1xxxx) created for different monitoring signs – blood pressure, EKG, pulse oxymetry, temperature, glucose, respiratory flow or drug concentration – and in development – e.g., urine analyzers, sleep monitors or mechanical ventilators.

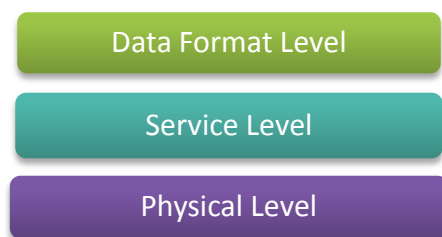


Figure 1. IEEE-11073 Structure

As we mentioned above, there are multiple developments for the physical layer, according to the transport technology of choice. In these implementations, the service and data format layers remain unaffected. Among all of them, we have focused on those related to Bluetooth - Bluetooth Health Device Profile (BHDP) - and Wifi - Zigbee Health Care Profile (HCP) -.

BHDP offers interoperability between devices using reliable point-to-point Bluetooth connections. Multiple systems can act as sinks or sources of data, including mobile devices [8]. At this point, it is noticeable the

compatibility of this profile with other frameworks, e.g. Java or Android. It also inherits several attributes from Bluetooth, such as its low energy consumption (with low energy profiles), authentication, encryption and security features – for example, the standard-128 algorithm used for data encryption.

On the other hand, Zigbee HCP permits multiple device connections in a single wireless network, using the defined standard IEEE-802.15.4. Zigbee also allows blind data transmission, and avoids the need to include synchronization delays between elements of the network. However, this profile presents higher power requirements than Bluetooth, and its security and data encryption measures are limited [9].

Despite their similarities in general features, BHDP represents a more appropriate alternative than Zigbee HCP. BHDP stands out for its low energy consumption and the complete security mechanisms of the protocol. On the contrary, Zigbee's current development does not permit a similar reliability or performance in data transmission. Also, Bluetooth is widely compatible with different frameworks and environments – e.g. Java, Android. Thus, these aspects reflect that despite of its growth potential, Zigbee HCP requires of greater development to become a successful competitor to BHDP.

2.2. Hospital Information Systems

Currently, patient information is stored in hospital information systems, within electronic records (Electronic Health Record – EHR), which can be shared with other specialists involved in the clinical process. Frequently, these information systems present several interfaces that facilitate their integration with other systems.

An example of EHR is SELENE®, a product marketed by Siemens, which we will use to illustrate certain aspects throughout this article. SELENE® provides a standardized SQL interface to the EHRs, based on the Java standard for database access, JDBC [11].

3. System Design

Our solution retrieves, integrates and presents to the user the information generated dynamically by a set of distributed monitors, as well as the patient clinical data stored in an EHR. These characteristics require the use of different architectural styles in the design process, such as a Client-Server Architecture and an Event-Driven Architecture (EDA).

The Client-Server Architecture is a producer-consumer model which divides the application in two levels: the client, which presents information to the user; and the server, which houses and provides high-end services to the client on demand. Client and server communicate using requests and responses. The client always initiates the communication, with a resource or process request. The server reacts to that request, processes it and delivers a response to the client [1].

It is possible to include additional software levels (tiers) to this basic structure, creating a multi-tier architecture.

Each tier is responsible for some tasks, reducing the workload of the client.

EDA represents an architectural style based on the exchange of asynchronous announcements or notifications, known as events. In contrast to other request-response interaction models, like a Client-Server Architecture, EDA is based on a publish-subscription model (represented in Figure 2), in which three different agents participate: event producers, brokers and event consumers.

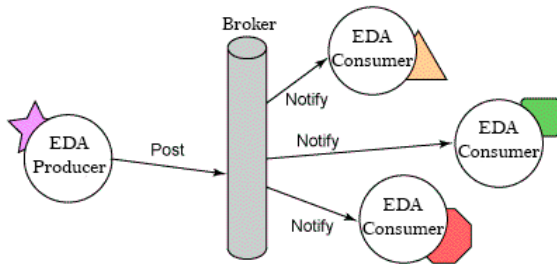


Figura 2. Event-Driven Architecture model

The producers notify the broker when an event occurs, and afterwards the broker informs all the subscribed customers, which trigger an action or operation in response to that notification [4]. In an EDA, events are communicated without a previous request and without being concerned about what happens afterwards with them.

3.1. Static model

The UML diagram in Figure 3 represents a static description of the system architecture, its organization in different subsystems or components, and the dependencies between them.

At the highest level, the proposed system architecture follows a multitier Client-Server architecture, composed by three levels: a Graphic User Interface (GUI) layer, a Business Logic layer and a Data Management layer.

The Data Management level is a persistence and integration layer which communicates with the external systems (monitoring devices, patient database) and the Business Logic level. Due to the asynchronous behavior of the monitors, the components that interact with them are based in an EDA pattern. Thus, the layer presents a Broker that manages events generated by these systems, and triggers an action in the subscribed consumers, including the local storage database and the IEEE-11073 Converter module. The IEEE-11073 Converter performs a conversion process from the different device protocols to the described standard IEEE-11073, providing the rest of the system with a common data format. Lastly, an Interlocutor allows communication with the patient database and information retrieval.

The Business Logic level interacts with the GUI and the Data Management layer. This element is structured following a Model-View-Controller (MVC) architecture pattern. The Model feeds from the local storage database, the patient database and the integration components which interact with the monitors. The Controller manages

all the user interactions of the GUI, and updates the data presented to the user in the View.

Finally, the View establishes the characteristics of the GUI, which presents the gathered information from the Model and defines the user interactions with the system.

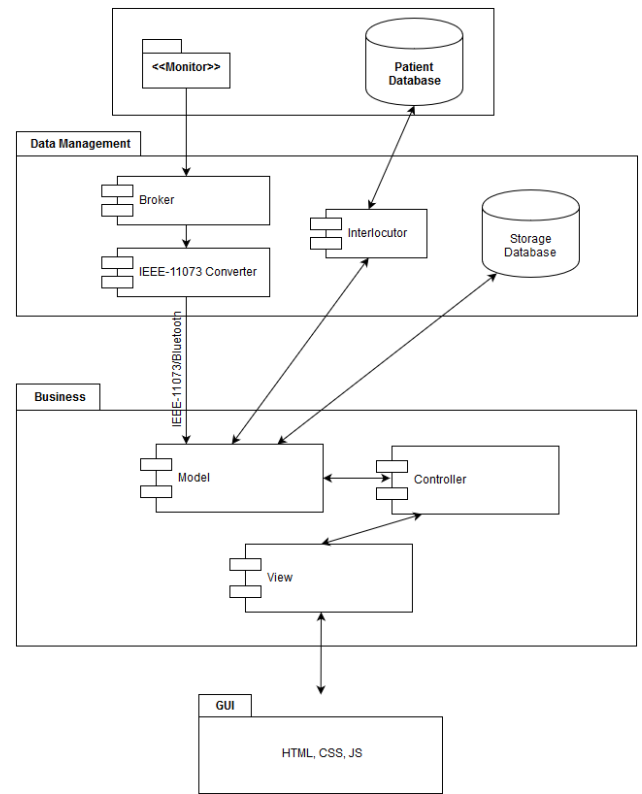


Figura 3. System architecture and components

3.2. Dynamic model

Finally, after presenting all these elements and their connections it is convenient to describe different execution scenarios. In fact, the use of asynchronous architectural styles (EDA) will influence significantly in these processes.

A first scenario is the production and publication of events by the monitors. These events will be managed by the handler, which will notify its subscribed customers – the data management and storage modules. Next, the Controller will modify periodically the GUI through the View, updating the displayed information.

Another alternative scenario involves communication with the external database via an Interlocutor. Using SQL queries, the user can access and retrieve patient information, which is displayed in the GUI.

4. Validation

To validate the system functional requirements, we developed a workable and realistic prototype. It simulates a scenario which introduces the main elements to validate – the MVC, Interlocutor and IEEE-11073 Converter components – and the information retrieval from two monitors and one patient database.

The prototype was implemented using Java and Web languages (HTML/JS/CSS). It is structured as a dynamic

Web application, and based on the previously described MVC pattern.

Due to the lack of access to external monitors, each of them was modeled as a Java thread which acted as a daemon, generating a sinusoidal signal which is displayed in the GUI (Figure 4). As a simplification, the data flow from the monitor was already provided in the format defined by the IEEE-11073 standard.

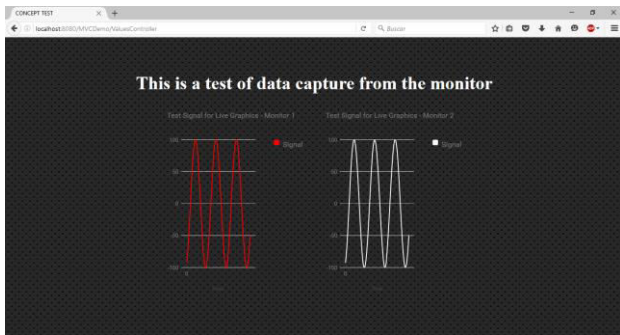


Figura 4. Prototype – Data capture from the monitor

The patient database was implemented using an H2 database. The Java-based JDBC API provided communication with the database and data retrieval using SQL queries (Figure 5), in the same way that a product database like SELENE® would be accessed.

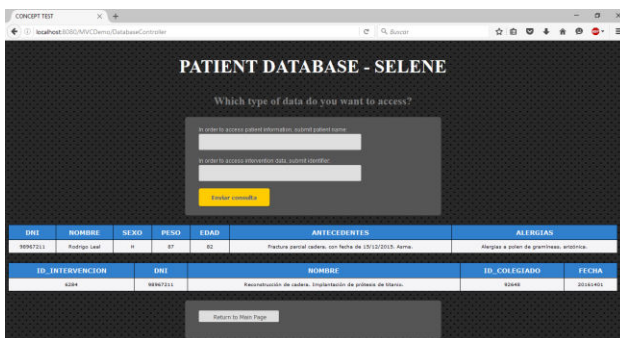


Figura 5. Prototype – Database communication

5. Discussion

In this section we will highlight and discuss some key aspects about the system design and validation.

Firstly, we emphasize the data adaptation process performed in the IEEE-11073 Converter. It is worth nothing that this element is generic enough to adapt to the current variety of devices. Thus, its design and applicability can be validated using any monitor of interest.

Secondly, the design must also be evaluated according to the non-functional requirements which we mentioned in the introduction. The choice of certain technologies and architectural styles in the design process provides the system with some of these properties.

For example, it is noticeable the use of an event-driven architectural style for the system elements which interact with the external monitors, allowing these components to operate asynchronously. Moreover, the IEEE-11073 standard has been proposed as a common communication

environment. Together, these technologies ensure system interoperability and flexibility. Also, the choice of Bluetooth HDP as the transport protocol of the standard provides the system with reliability and security mechanisms in data transmission.

However, a verification of the compliance with these requirements is let for future work.

6. Conclusions and Future Work

In this paper we have presented the design and discussion of an IT system which retrieves, integrates and presents to the user the information generated dynamically by a set of monitors and the patient clinical data stored in an EHR. This way, the overpopulation of monitoring devices in operating rooms does not limit the efficiency and mobility of the medical staff during surgery.

It is also noticeable that the proposed design represents an early stage of this approach, as it has been developed as a final degree project. Thus, it must be considered as a starting point from which continue in future stages, digging deeply in different aspects - for example, the system interaction with the external elements.

References

- [1] Wunderlich H, Cardalliaguet D, Heald R, Shimizu T, Ziesemann D. Building Multi-tier Scenarios for WebSphere Enterprise Applications, *IBM Software Services for WebSphere*, 2003.
- [2] Trigo et al. Standard-Compliant Real-Time Transmission of ECGs: Harmonization of ISO/IEEE 11073-PHD and SCP-ECG. *31st Annual International Conference of the IEEE EMBS*, Minneapolis, Minnesota, USA, September 2-6, 2009.
- [3] Freehill P, Chambers D, Rotariu C. Using Zigbee to Integrate Medical Devices. *Proceedings of the 29th Annual International Conference of the IEEE EMBS Cité-Internationale*, August 23-26, 2007.
- [4] Woolf, B. Event Driven Architecture and Service Oriented Architecture, *IBM Software Services for WebSphere*, 2006.
- [5] Maréchaux, JL. Combining Service-Oriented Architecture and Event-Driven Architecture using an Enterprise Service Bus, url: <http://www.ibm.com/developerworks/library/ws-soa-eda-esb/>, IBM developerWorks, 2006.
- [6] Oh, Am-Suk. A Study on Design of Health Device for U-Health System, *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology*, Vol.7, No.2, pp.79-86, 2015.
- [7] Sang Kon, Kim. *ISO/IEEE 11073-20601 Optimized Exchange Protocol Tutorial*, 2011.
- [8] Noueihed J, Diemer R, Chakraborty S, Biala S. Comparing Bluetooth SPP and HDP for Mobile Health Devices, *Institute for Real-Time Computer Systems*, TU Munich, Vodafone Group R&D Germany, Munich.
- [9] *Zigbee Wireless Sensor Applications for Health, Wellness and Fitness*, Zigbee Alliance, 2009.
- [10] Clarke M.C., *IEEE-11073: Personal Health Device (PHD) Standards Tutorial*, American Telemedicine Association, 2014 Annual Meeting, Baltimore, Maryland.
- [11] Torres A, *Tecnologías en la informática sanitaria*, Siemens Medical, Solutions Health Services, 2004.

Development and Implementation of Biological Circuits Using Excitable and Non-Excitable Cells

V. Casasnovas-Orus¹, L. Gómez-Cid¹, I. Hernández-Romero¹, L. Fuentes¹, M.S. Guillem², F. Atienza¹, F. Fernández-Avilés¹, A.M. Climent¹

¹ Servicio de Cardiología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

²ITACA, Universitat Politècnica de Valencia, Valencia, España

Abstract

Compared to conventional computation systems, living beings require reduced power and raw materials consumption, inviting to explore the concept of biological circuits. In this project, a proof-of-concept of logical biocircuits using cell patterns has been developed. These were based upon differential ionic communication between cells, being the cells types used excitable and non-excitable, modeled by cardiomyocytes and fibroblasts correspondingly. To begin, patterns for the basic logic computation blocks were designed, including the OR gate, AND gate and logic memory. The designs were evaluated with mathematical models and in vitro experiments. Results of mathematical modeling indicated that theoretical approval of the biocircuit function. Regarding in vitro biocircuit implementation, three different selective cell localization techniques proved useful for the pattern creation. Evaluation with optical mapping confirmed the operation of the OR gate and logic memory. More resolution in the cell placement strategy will be needed to observe the proper AND gate operation. Thus, fine-tuning of the implementation process will enable the construction of more complex biocircuits that will take on clinical applications relating to electric stimulation of tissues and programmed drug delivery.

1. Introduction

Silicon-based computation systems are highly present in society. However, the resources needed for their fabrication are limited and consume a great amount of energy. Therefore, efforts have been made towards the development of alternative sustainable computation systems, within which we can find biocomputational models. Among the reasons for creating the biological counterpart of computation systems we find that living beings present lower power consumption and the raw materials they require are biological molecules that are widely present in nature. Besides, biological circuits entail full biocompatibility, which facilitates their integration in our bodies. Clinical applications that would come with biocircuits could be novel stimulation therapies or programmed drug delivery. Thus when receiving the appropriate input values, on-demand therapeutic action would be provided as an output.

In this project, biological circuits were developed based on the ionic communication between excitable and non-excitable cells and created by appropriate patterning of these. Given their electrophysiological properties,

cardiomyocytes and fibroblasts were chosen for the implementation. To build complex biocircuits, the building blocks of these had to be first designed and validated. These building blocks operated in a two-state logic manner, in which a 1 was assigned when an action potential was detected and a 0 otherwise. In this way, by combining excitable and non-excitable cells, the OR and AND logic gates, as well as a logic memory were created. By accomplishing a proof-of-concept of these biocircuit modules, a novel opportunity of biocomputation is presented.

2. Materials and Methods

1. Biocircuit Design

The logic gates designed include the OR and AND gates, destined to perform logic computation. As well, a logic memory for two-state data storage was developed.

For accurate implementation, a configuration of non-excitable cells in between excitable ones that assured unidirectional electrical propagation was arranged (Fig. 1). This special configuration consisted on placing non-excitable cells in the shape of an arrow tip in the middle of an excitable cell patch.

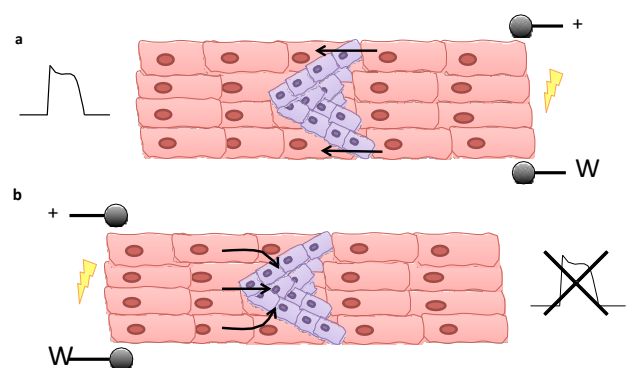


Fig. 1. Unidirectional impulse conduction. (a) Stimulation occurs in the left part, thus the impulse passes through the non-excitable cell barrier and action potentials are recorded on the other side. (b) Stimulation occurs from the right, so the electric impulse encounters the bulk of non-excitable cells and its propagation is terminated.

The OR logic gate (Fig. 2) takes on two inputs, and its output will be 1 whenever one of the inputs takes the

value of 1 as well. The unidirectional impulse propagation block was inserted into both input branches so that the electrical impulse only travelled towards the output.

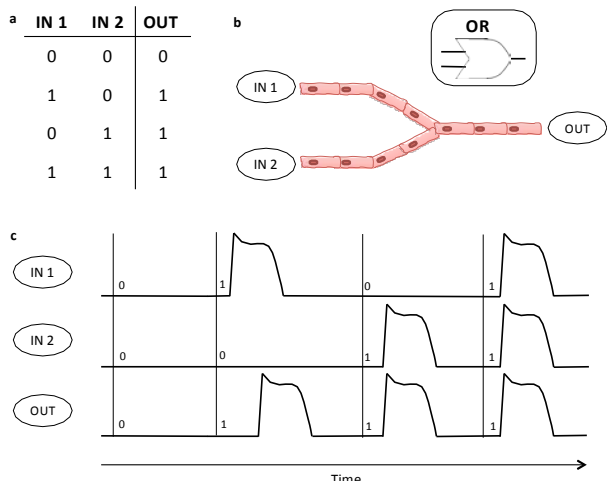


Fig. 2. OR logic gate. (a) Truth table of the OR logic operation. (b) Cell pattern for OR gate implementation. (c) Electrical response in the inputs and output of the cellular OR logic gate.

The AND logic gate (Fig. 3) has two inputs and its output will be 1 only if both inputs have this value. The design included non-excitable cells that took the role of current sinks when an action potential was received from only one input. When action potentials were set in both inputs, the current was able to cross the non-excitable cell part and trigger another action potential at the other side of it.

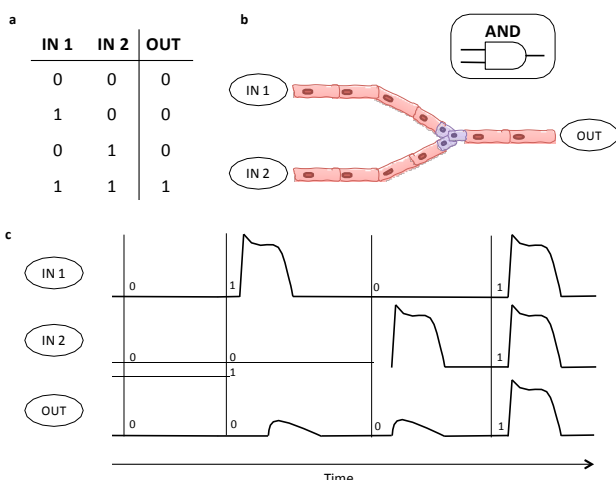


Fig. 3. AND logic gate. (a) Truth table of the AND logic operation. (b) Cell pattern for AND gate implementation. (c) Electrical response in the inputs and output of the cellular AND logic gate.

Logic memories for two-state data storage consisted on a succession of excitable cells in a circular shape (Fig. 4). Whenever the memory was activated the action potential propagated along the circle continuously, and at times the action potential was detected in the output. The unidirectional impulse conduction block was inserted in the memory circle so that only impulse propagation in the clockwise direction persisted.

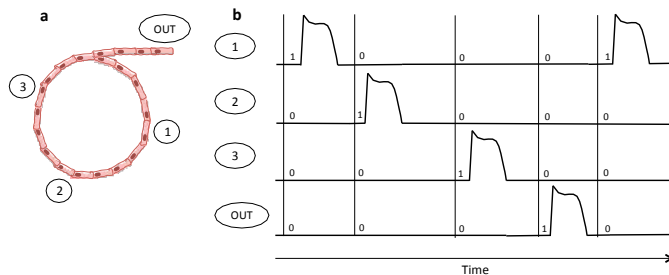


Fig. 4. Logic memory. (a) Cell pattern for the logic memory implementation. (b) Electrical response in three stages of the memory and in the output.

2. Mathematical Modeling

The first approach to validate the biocircuit designs was to evaluate them in a theoretical manner with mathematical models. To this end, a cardiomyocyte and fibroblast model that depicted their electrophysiological behavior were chosen and used together with the circuit geometries to recreate the biocircuit operation.

A human atrial myocyte mathematical model was chosen that included both sarcolemmal and sarcoplasmic reticulum ion currents (1). As for the fibroblast model, an active model of atrial fibroblast was selected (2).

Shapes of the circuits in which the cell models were included were created using MATLAB and transformed into meshes. Cell density and mesh regularity were adjusted using MeshMixer software. Simulations were run in custom-made software (3).

3. In vitro Implementation

The next step to mathematical modeling was to build the circuits *in vitro*, so to complement the results obtained with the models. The excitable HL-1 and the non-excitable H9c2 cardiac cell lines were chosen to perform the experiments.

Cell culture

The cardiomyocyte HL-1 and myoblast H9c2 cell lines were cultured and maintained according to the protocol established by Claycomb et al. (4) and Hescheler et al. (5) respectively.

Selective cell localization techniques

The operation of the logic circuits proposed is based upon strategic localization of cells, so to modulate the flow of ions and obtain the desired output responses. Three manual methods to create the circuit patterns *in vitro* were tested: etching contours, droplet deposition and PDMS molds.

Etching contours was aimed at creating the logic circuits that were composed by only excitable cells, namely the OR gate and logic memory. HL-1 cells were seeded in Petri dishes. When reaching confluence, contours of the biocircuit shapes were etched with the tip of a pipette and the optical mapping test was performed.

To build the logic gates that integrated both excitable and non-excitable cells, cells were localized through droplet deposition. Drops of 10 µl with a HL-1 cell concentration

of 2.500 cells/ μl were placed following the circuit designs and then the individual drops were joined with the tip of a pipette. After cells adhered, dishes were washed to remove unbound cells and culture medium was added. If H9c2 cells were needed, they were seeded to occupy empty spaces. The OR, AND and memory blocks were created with this technique.

The third technique was PDMS negative molds in which cells were seeded. A positive stamp was designed with Solidworks software, and the pieces were printed with a 3D printer in polylactic acid (PLA) plastic. Then, the pre-polymer PDMS and a curing agent were mixed in proportion 10:1. The mixture was poured onto the Petri dish and the positive PLA stamp was placed on top. This configuration was kept in an oven at 80 °C for half an hour for PDMS curing. Then, the PLA piece was removed and a solid PDMS mold was obtained. Its surface was treated with a fibronectin and gelatin solution to allow cell adhesion.

Optical mapping: electrophysiological analysis

The patterns created by the different localization techniques were assessed by means of optical mapping to view their electrical response (6). The optical mapping test was carried out using a calcium sensitive dye, so that calcium transients propagation through HL-1 cells were recorded. For the test, culture media of the dishes was removed and a solution composed by 1.5 ml of Tyrode saline solution, 8 μm of probenecid and 5 μm of rod-2 dye were added to each Petri dish. These dishes were incubated for about 30 minutes.

3. Results

1. Mathematical Modeling

The configuration used to achieve impulse conduction in a single direction was the first to be tested (Fig. 5). Several trials varying the fibroblast portion thickness were made until the principle was verified. Accordingly, this arrow tip shape of fibroblasts was inserted in the OR gate input branches and in the logic memory so avoid impulse front cancelling.



Fig. 5. Mathematical modeling of unidirectional impulse conduction. Results for a cable of cells stimulated from the left (left column) and from the right (right column). Rows indicate different time points. It can be noticed that at time point 3 in the left cable the impulse has been blocked. In the right cable the impulse has progressed and reaches the end. Membrane voltage (mV) colorbar on the right.

The logic memory simulations proved its adequate functioning (Fig. 6). The unidirectional impulse propagation principle was integrated; else opposing

impulse fronts travelling along the circle would meet and cancel themselves.

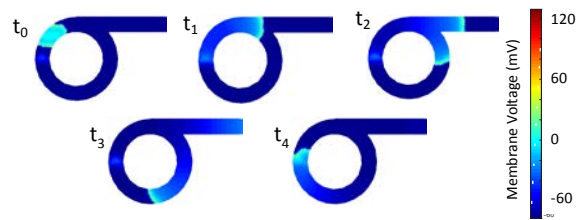


Fig. 6. Mathematical modeling of the logic memory. Different time points are shown after memory initialization. Membrane voltage (mV) colorbar on the right.

Both the OR and AND gate modeling reflected the proper logic operation (Fig. 7, Fig. 8). Time point 0 shows the initial state of the gate shortly after activation. Time point 1 reflects an intermediate state when action potentials have reached the center of the shape. Finally, time point 2 shows nearly the end of the simulation for the corresponding inputs, so whether the impulse front is detected or not in the output.

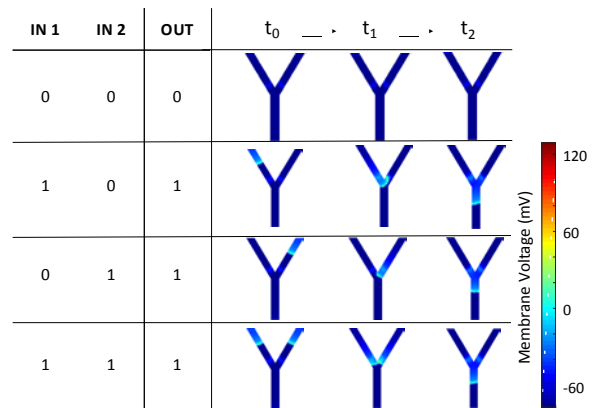


Fig. 7. Mathematical modeling of the logic OR gate. Rows indicate different input/output states and columns represent the corresponding operation at various time points. Membrane voltage (mV) colorbar on the right.

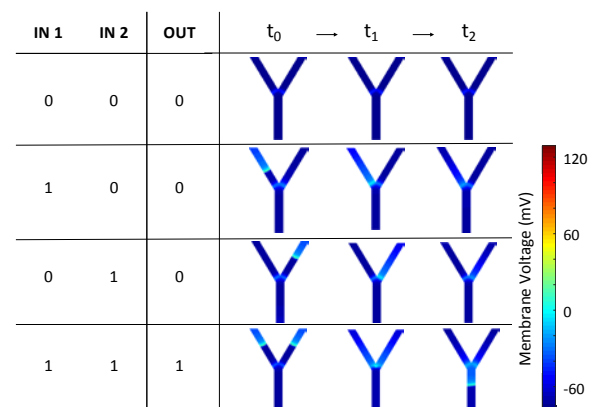


Fig. 8. Mathematical modeling of the logic AND gate. Rows indicate different input/output states and columns represent the corresponding operation at various time points. Membrane voltage (mV) colorbar on the right.

3.2. In vitro Implementation

Both the logic memory and the OR gate created with HL-1 cells had a successful operation. Regarding the logic memory (Fig. 9), it activated spontaneously and remained

active for approximately a minute, in which the impulse front propagated in a clockwise manner and reached the output at times. As well, the OR gate displayed the proper operation (Fig. 10). Inputs were set to 1 by stimulating them with electric pulses. The unidirectional impulse conduction in the OR gate input branches is pending implementation as it requires high placement resolution that was unavailable using these localization techniques.

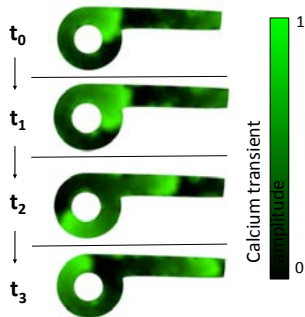


Fig. 9. Logic memory. Pattern created by etching contour. Optical mapping results at various time points. Green color represents electrical activation (action potential presence).

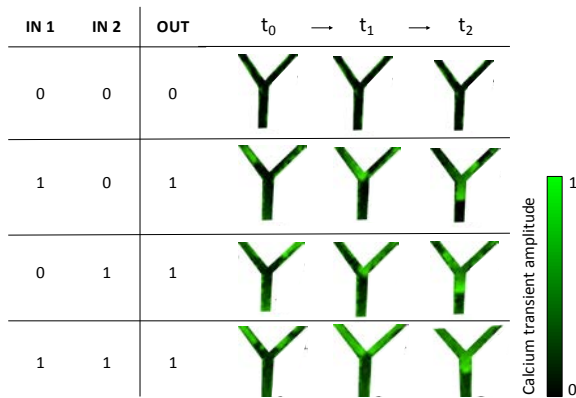


Fig. 10. OR logic gate. Pattern created by etching contour. Optical mapping results at various time points. Green color represents electrical activation (action potential presence).

4. Discussion

1. Major Findings

The extent of this project so far has been to create a proof-of-concept of cellular biocircuits. Both cardiomyocyte and fibroblast mathematical models that corresponded with a representation of *in vivo* cellular behavior were implemented to give a theoretical basis of the circuit functioning. With these models and the proposed circuit shapes, the OR and AND logic gates, as well as the logic memory operation were validated.

As for *in vitro* implementation, the circuits that were composed only by excitable cells, specifically the OR gate and logic memory, could be patterned, and electrophysiological tests confirmed their logic functioning capability. Thus, the creation of these building blocks is a step forward in the feasibility of biological computation at a cellular level.

4.2. Limitations

The main limitations came with the *in vitro* biocircuit implementation. The manual patterning techniques

employed had poor resolution, thus the number of cells placed and the contacts between them could not be adjusted, being this the main reason why the AND gate operation could not be visualized.

4.3. Future Work

Implementation of biocircuits in a precise manner is a main objective. Among the strategies to take over this process are 3D bioprinting, a technology that allows for the micrometer scale resolution material deposition that is needed in this project. Once the operation of all of the biocircuit building blocks has been confirmed, the next step would be to construct more complex circuits by the combination of these blocks. In this way, higher-order biocomputations could be performed.

5. Conclusion

The first steps towards the feasibility of biological circuits using excitable and non-excitable cell patterns has been achieved. Validation of the designs for the OR, AND logic gates and the logic memory provide insight into the creation of complex biocircuits and the establishment of these novel computation systems.

Acknowledgements

This work was supported by the EXPLORA grant “Desarrollo de Computadores Lógicos Biológicos Basados en Comunicación Iónica entre Células Cardíacas Excitables y No Excitables” from the MINECO (TEC2013-50391-EXP).

References

- 1 Koivumäki JT, Korhonen T, Tavi P. Impact of Sarcoplasmic Reticulum Calcium Release on Calcium Dynamics and Action Potential Morphology in Human Atrial Myocytes: A Computational Study. *PLOS Comput Biol.* 2011 ene;7(1):e1001067.
- 2 Maleckar MM, Greenstein JL, Giles WR, Trayanova NA. Electrotonic Coupling between Human Atrial Myocytes and Fibroblasts Alters Myocyte Excitability and Repolarization. *Biophys J.* 2009 Oct 21;97(8):2179–90.
- 3 Garcia-Molla VM, Liberos A, Vidal A, Guillem MS, Millet J, Gonzalez A, et al. Adaptive step ODE algorithms for the 3D simulation of electric heart activity with graphics processing units. *Comput Biol Med.* 2014 Jan 1;44:15–26.
- 4 Claycomb WC, Lanson NA, Stallworth BS, Egeland DB, Delcarpio JB, Bahinski A, et al. HL-1 cells: A cardiac muscle cell line that contracts and retains phenotypic characteristics of the adult cardiomyocyte. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 Mar 17;95(6):2979–84.
- 5 Hescheler J, Meyer R, Plant S, Krautwurst D, Rosenthal W, Schultz G. Morphological, biochemical, and electrophysiological characterization of a clonal cell (H9c2) line from rat heart. *Circ Res.* 1991 Dec 1;69(6):1476–86.
- [6] Climent AM, Guillem MS, Fuentes L, Lee P, Bollensdorff C, Fernández-Santos ME, et al. Role of atrial tissue remodeling on rotor dynamics: an *in vitro* study. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2015 Dec 1;309(11):H1964–1973.

Fluorescence Endoscopy *in vivo* based on Fiber-bundle Measurements

B. Zufiria¹, P. Gómez-García¹, K. Stamatakis², J.J. Vaquero^{1,3}, M. Fresno², M. Desco^{1,3}, J. Ripoll^{1,3}, A. Arranz²

¹ Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, Madrid 28911, Spain, jorge.ripoll@uc3m.es, blanca.zufiria@gmail.com

² Centro de Biología Molecular 'Severo Ochoa' (CBMSO), CSIC-Universidad Autónoma de Madrid, Madrid 28049, Spain, alicia.arranz@cbm.csic.es

³ Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid 28007, Spain

Abstract

*High-resolution imaging techniques have become important for the determination of the cellular organization that is coupled to organ function. In many cases the organ can be viewed without the need of ionizing radiation techniques in an easier way. This is the case of the gastrointestinal tract, an organ that can be directly accessed with endoscopy avoiding any invasive procedure. Here we describe the design, assembly and testing of a fluorescence high-resolution endoscope intended for the study of the cellular organization of the colon in an experimental mouse model of colon carcinoma. Access to the colon of the mouse took place using a fiber-optic bundle that redirects the light coming from a LED to produce fluorescence and detect it back through the fiber bundle. Results from *in vivo* and *ex-vivo* test using our fluorescence fiber bundle endoscope show altered tissue structure and destruction of the intestinal crypts in tumor-bearing areas compared with healthy tissue.*

1. Introduction

Endoscopy is used in the diagnosis of gastrointestinal conditions such as inflammatory bowel disease, Crohn's disease, ulcerative colitis or colorectal cancer, and there are a great number of different endoscopy systems with its corresponding applications [1, 2, 3]. Endoscopy also has great potential as a technique for early detection of alterations in the intestinal mucosa, which can then lead to chronic inflammatory processes or neoplasms. Early detection allows early onset of specific treatment and the possibility of reducing the severity of the possible complications of the disease. However, such early lesions are not usually detected with conventional endoscopes. The main reason is the lack of cellular detail offered by these endoscopes and lack of markers with specific contrast. The latest advances in endoscopy, mainly video-endoscopy, high resolution endoscopy, and narrow band imaging, attempt to improve this situation, but are still far from providing the specificity and resolution required, and are not suitable for the study of molecular markers. Therefore, it is essential to develop more advanced endoscopic technologies that enable observation of gastrointestinal epithelium with higher resolution, making obvious microscopic changes in the structure of the

mucosa, which would otherwise go undetected with conventional endoscopic techniques. The early detection of colorectal cancer is crucial for diagnosis and treatment, increasing significantly the probability of survival. Different techniques have been used for screening and detecting colorectal cancer and endoscopy has become one of the most important ones for the prevention, early detection, diagnosis, and treatment of cancer. Endoscopy is a non-invasive imaging technique that provides clinicians with additional information regarding color, surface texture and other characteristics that cannot be seen with other imaging techniques such as x-rays and MRI. Thus, the usefulness of the confocal endomicroscopy in early detection of tumors or structural alterations of the gastrointestinal mucosa has been demonstrated in several studies that were analyzed cases of Barrett's esophagus [4, 5], ulcerative colitis [6, 7] colorectal cancer [8, 9] or celiac disease [10].

In this work we have developed an endoscopy system that uses fluorescence in order to study colorectal cancer in mice. The goal is to image the cellular organization of the mouse large intestine, characterized by the crypt structure, and its alteration during the development of tumors. A crypt is composed of a structure of cells forming a microscopic dead-end tube shape with a central cavity down the length of the tube (as shown in Figure 1). During the development of colon cancer, the crypt structure is destroyed due to loss of proliferation control.

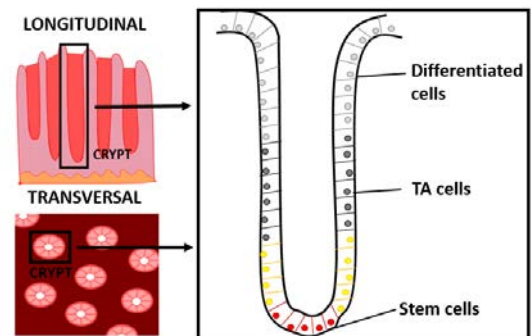


Figure 1. The structure of the large intestine (colon) crypt formed by different types of cells

The endoscope developed uses one single fiber bundle composed of optical fibers that carry coherent light from one end of the fiber to the other by total internal refraction (Figure 2). Furthermore fluorescence is used to create images allowing us to analyze several signals and to track them in real time. The use of a fiber-bundle enables high-quality video providing us with new options for *in vivo* biological research and high resolution fluorescence imaging. The fiber-bundle can be inserted in small cavities of the body that otherwise cannot be examined such as head and neck areas or arteries.

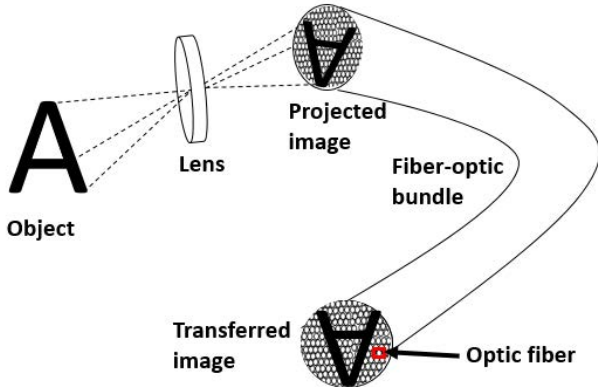


Figure 2. Coherent fiber bundle of a fiber-optic endoscope

The fluorescence endoscope was tested in mice, *in vivo* and *ex-vivo*, showing clear differences between healthy and cancerous tissues when imaged through the fiber-based endoscope. Further comparison and validation *ex-vivo* with Selective Plane Illumination Microscopy, can be found in [11].

2. Materials and Methods

2.1. Fiber-optic endoscope components and system assembly

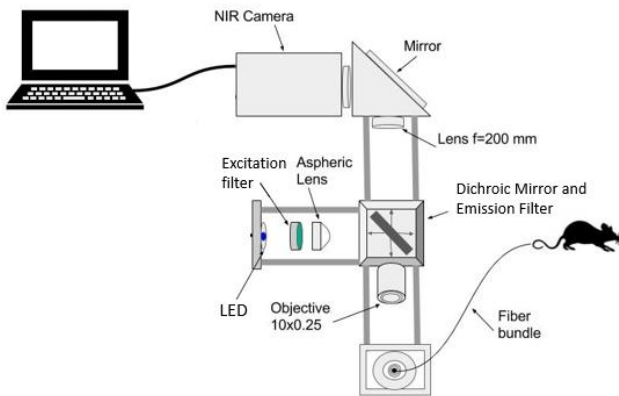


Figure 3. Scheme of the fiber-optic endoscope system components

The images of the endoscopy system are captured by a CCD camera (Manta G-145 NIR, Allied Vision technologies, Stadtroda, Germany), generating videos with and without excited fluorescence under the normal surgical

room lighting condition in real time. This camera is sensitive both to the visible and NIR wavelengths, thus expanding the range of fluorophores that may be used in our endoscope. An Ultraviolet 405 nm light-emitting diode (LED Thorlabs, Newton, NJ, USA) is used as light source to excite our sample and produce fluorescence. An aspheric lens (Thorlabs, Newton, NJ, USA) is needed to focus the LED radiation. An objective, with a magnification 10x (Edmund Optics, Barrington, NJ, USA), with numeric aperture of 0.25 and a working distance of 10.6 mm, is used to adjust the light and focus the images. The image of the fiber, is focused first in the objective, and then onto the camera by means of a biconvex lens with focal distance 200mm (Thorlabs, Newton, NJ, USA). An emission filter and an excitation filter as well as a dichroic mirror are needed to filter the desired wavelengths and to redirect light to the direction we want (Edmund Optics, Barrington, NJ, USA). Both emission and excitation filters are band pass-filters with central wavelengths of 483nm and 400nm and half-bandwidths of 31nm and 40nm respectively.

The LED emits light in a rather broad wavelength range so that an excitation filter is needed to limit the wavelengths into a smaller range. The excitation filter is a band-pass filter that is placed between the LED and the aspheric lens and only transmits light that is able to excite the sample marked with the specific fluorophore.

The optic fibers used in this project are Fujikura image fibers (FIGH-30-850N, Fujikura, Kōtō, TKY, Japan). These fibers are extremely thin providing great image quality with very high-resolution in ultra-thin diameters, high pixel density as well as great contrast and color with no defects, being ideal for endoscopes due to its small size providing vision to previously inaccessible locations. The fiber bundle chosen for this project has 30.000 optic fibers and it has an outer diameter of 1 mm. Each individual fiber has a diameter of 5 μm.

All the system was placed inside a box specifically designed for it as shown in Figure 4.

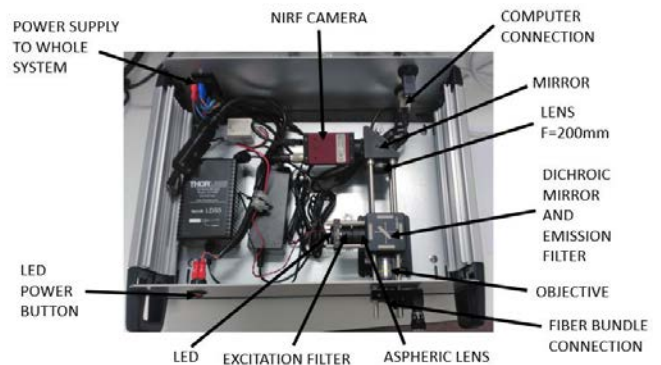


Figure 4. Final system assembly of the fiber-optic endoscope into the box opened with all components

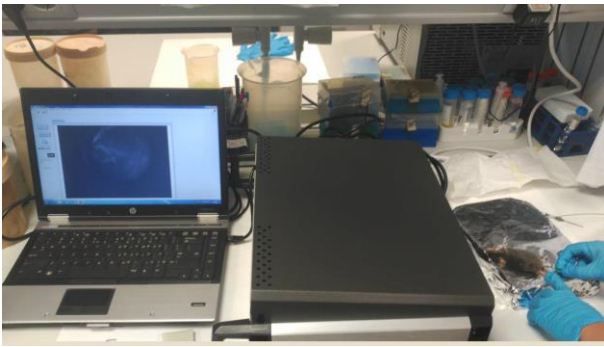


Figure 5. Testing the fluorescence fiber-optic endoscope in vivo (mouse)

2.2. Fiber-optic endoscope control with LABVIEW program

A LabVIEW program (National Instruments, Austin, TX, USA) was developed in-house to control our endoscope system and allowed us to acquire real-time images. The IMAQ Vision library (National Instruments, Austin, TX, USA) was used for the NIR camera detection and to develop the imaging applications needed for the image acquisition.

2.3. In vivo and Ex-vivo tests

C57BL/6 mice were purchased from Charles River. All procedures described here were approved by the CBMSO-UAM's Ethics Committee (Madrid, Spain) and complied with National and European Union legislation. Mice were housed at the animal facility of the CBMSO. Different *in vivo* tests with the fiber-optic endoscope system were done in healthy animals. To analyze also the performance of the system in situations where the colon tissue is altered, the AOM/DSS mouse model was used to induce colorectal cancer, as previously described [12, 13]. In this model, the administration of azoxymethane (AOM), a typical compound used in biological research for the induction of cancer by favoring the introduction of mutations in the DNA, is combined with the administration of at least three cycles of the inflammatory agent dextran sodium sulphate (DSS), allowing recovery of two weeks in each cycle. DSS induces an inflammation on the mouse colon that mimics the clinical and histological features of Inflammatory Bowel Diseases in humans, an inflammatory, chronic and autoimmune disorder that mainly affects the colon. 80-120 days after AOM injection, numerous polyps and some tumors can be detected in the colon of the mice.

For the *in vivo* tests, animals were anesthetized with 3% Isoflurane and maintained warm with an electric blanket. The fluorescence signal was obtained by topical administration of acriflavine (Sigma-Aldrich) 0,1% in PBS, directly through the intestine cavity. Acriflavine has an excitation wavelength of 460 nm and an emission wavelength of 514 nm in water. It labels cell nuclei and is commonly used as a fluorescent contrast agent in human microendoscopy [14].

The real time images were monitored with the LabVIEW program and the gain and exposure times were changed as desired in order to improve the illumination of the image. Real-time video allowed us to easily drive the fiber bundle

through the intestine of the mouse while simultaneously several videos were recorded during the experiment for further study. Before and after each experiment, the fiber was cleaned with a lens cleaning tissue moistened in isopropanol being careful at the tip of the optical fibers.

For the *ex-vivo* tests, animals were deeply anesthetized and euthanized and colon tissue was aseptically removed and fixed in 4% paraformaldehyde at least 24h at 4°C. The procedure was the same followed during the *in vivo* tests.

3. Results and Discussion

Several videos were recorded during *in vivo* and *ex-vivo* tests with the endoscope to analyze the tissue structure of the mouse colon, detecting the characteristic crypt structure.

The test was performed in a mouse subjected to the AOM/DSS model of colon carcinoma. It is important to note that no visible signs were detected in this mouse, as often happens during the development of this model [15]. We realized during the *in vivo* test on an AOM/DSS-treated mouse that there were areas of the colon tissue where the crypt structure was easily detected (Figure 6.A) and that there were other areas where the tissue was destroyed and no crypt structure appeared (Figure 6.B), as it is expected in tumor-bearing areas.

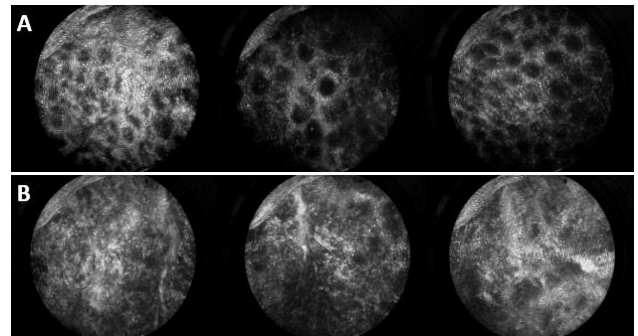


Figure 6. Colon of an AOM/DSS mouse seen with the fiber-optic endoscope in vivo. A) Tumor-free area in which we can appreciate the crypt structure of the intestine. B) Tumor affected area in which we can see how the crypt structure disappears

After the endoscopy measurements, the AOM/DSS mouse was euthanized and we confirmed *ex-vivo* that the difference between the crypt-structured and not-structured areas was indeed due to the presence of tumor-free and cancer affected areas, respectively (Figure 7).

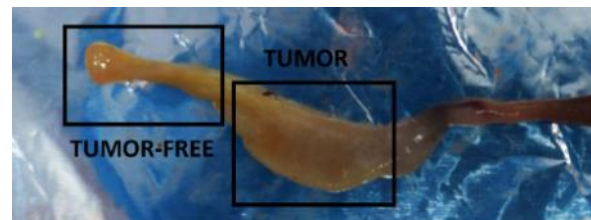


Figure 7. Colon from AOM/DSS mouse model extracted after been analyzed with the fiber-optic endoscope in vivo

On the other hand, when testing the endoscope *in vivo* in healthy mice, we were able to detect the crypt structure on the whole colon (Figure 8).

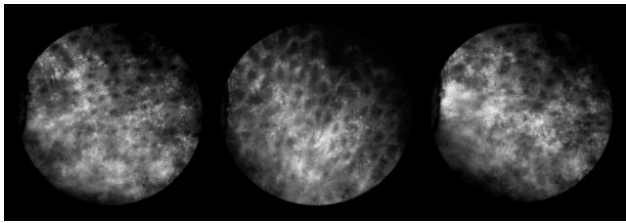


Figure 8. Colon of a healthy mouse seen with the fiber-optic endoscope *in vivo*

If we compare the results on healthy mice (Figure 8) with the results on the AOM/DSS mouse model (Figure 6) we can see that the crypts in this last mouse model seem to be larger than the ones on the healthy mouse. The reason could be that, although both are healthy parts of the colon, the area on the AOM/DSS mouse model could have begun to be affected by cancer and the crypts started to lose structure, increasing in diameter.

During the *ex-vivo* tests with healthy mice, we obtained similar results to those obtained *in vivo*. The crypt structure was well appreciated in the whole previously extracted colon of a healthy mouse (Figure 9)

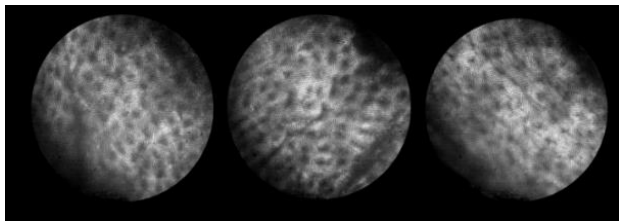


Figure 9. Colon of a healthy mouse seen with the fiber-optic endoscope *ex-vivo* in which we can appreciate the crypt structure of the colon tissue

4. Conclusions

We have presented here a fluorescence fiber-optic endoscope appropriate for *in vivo* studies of colorectal cancer in mice, being optimal in the detection of the cellular structure (crypts) of the large intestine (colon).

The system's application in mice has been demonstrated with *in vivo* tests in healthy mice as well as in a AOM/DSS mouse model of colorectal cancer. The *in vivo* test has shown that, as expected, there were areas of the colon where the characteristic crypt structure of the intestine tissue has been preserved while other parts of the colon that have been affected by cancer and in which the tissue structure has been destroyed.

Acknowledgements

This project was funded by the Spanish MINECO project grant FIS2013-41802-R MESO-IMAGING, and the Madrid Regional project CM-BRADE-TG2015.

References

[1] Benjamin A Flusberg, Eric D Cocker, Wibool Piyawattanametha, Juergen C Jung, Eunice L M Cheung & Mark J Schnitzer. Fiber-optic fluorescence imaging. *Nature Publishing Group* (2005).

[2] Gyungseok Oha, Euiheon Chung Seok H. Yun. Optical fibers for high-resolution *in vivo* microendoscopic fluorescence imaging. *Optical Fiber Technology* Volume 19, Issue 6, Part B, Pages 760–771 (2013).

[3] Mark Pierce, Dihua Y, Rebecca Richards-Kortum. High-resolution Fiber-optic Microendoscopy for *in situ* Cellular Imaging. *Journal of Visualized Experiments* (2011).

[4] Kiesslich R, Gossner L, Goetz M, Dahlmann A, Vieth M, Stolte M, Hoffman A, Jung M, Nafe B, Galle PR, Neurath MF. *In vivo* histology of Barrett's esophagus and associated neoplasia by confocal laser endomicroscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 979-987

[5] Dunbar KB, Okolo P, Montgomery E, Canto MI. Confocal laser endomicroscopy in Barrett's esophagus and endoscopically inapparent Barrett's neoplasia: a prospective, randomized, double-blind, controlled, crossover trial. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 645-654.

[6] Kiesslich R, Goetz M, Lammersdorf K, Schneider C, Burg J, Stolte M, Vieth M, Nafe B, Galle PR, Neurath MF. Chromoscopy-guided endomicroscopy increases the diagnostic yield of intraepithelial neoplasia in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2007; 132: 874-882.

[7] Hurlstone DP, Thomson M, Brown S, Tiffin N, Cross SS, Hunter MD. Confocal endomicroscopy in ulcerative colitis: differentiating dysplasia-associated lesion mass and adenoma-like mass. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007; 5: 1235-1241.

[8] Polglase AL, McLaren WJ, Skinner SA, Kiesslich R, Neurath MF, Delaney PM. A fluorescence confocal endomicroscope for *in vivo* microscopy of the upper- and the lower-GI tract. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 686-695.

[9] Kiesslich R, Burg J, Vieth M, Gnaendiger J, Enders M, Delaney P, Polglase A, McLaren W, Janell D, Thomas S, Nafe B, Galle PR, Neurath MF. Confocal laser endoscopy for diagnosing intraepithelial neoplasias and colorectal cancer *in vivo*. *Gastroenterology* 2004; 127: 706-713.

[10] Venkatesh K, Abou-Taleb A, Cohen M, Evans C, Thomas S, Oliver P, Taylor C, Thomson M. Role of confocal endomicroscopy in the diagnosis of celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010; 51: 274-279.

[11] Zufiria, B., Bocancea, D. I., Gómez-Gavero, M. V., Desco, M., Fresno, M., Ripoll, J., & Arranz, A. (n.d.). The Cubic Protocol adapted for 3D imaging of the intact murine colon with light sheet microscopy.

[12] Clemens Neufert, Christoph Becker & Markus F Neurath, An inducible mouse model of colon carcinogenesis for the analysis of sporadic and inflammation-driven tumor progression, *Nature Protocols* 2, -1998 - 2004 (2007)

[13] Robertis, M. De, Massi, E., Poeta, M. L., Carotti, S., Morini, S., Cecchetelli, L., ... Fazio, V. M. (2011). The AOM/DSS murine model for the study of colon carcinogenesis: From pathways to diagnosis and therapy studies. *Journal of Carcinogenesis*, 10, 9. <http://doi.org/10.4103/1477-3163.78279>

[14] Shukla et al., World journal of Gastrointestinal Endoscopy, 2011

[15] Thaker et al, JVis Exp 2012, Modeling Colitis-Associated Cancer with Azoximethane and DSS

Development of a 3D-Printed Robotic Prosthetic Arm

M. Gómez Martínez, A. Garcia-Miquel, N. Vidal Martínez

Departamento de Electrónica, Universidad de Barcelona, Barcelona, España,
meritxellgm94@gmail.com, aleix.garcia@ub.edu

Abstract

Current prostheses are not affordable to the general public. 3D printing technology may allow low-cost production of such devices, making them more readily accessible to people in need. This contribution presents the set-up and the considerations that have to be taken into account to develop a functional artificial upper limb prototype. The robotic prosthetic arm reported herein was produced entirely using 3D printing technology to demonstrate its feasibility on a limited budget. The project was developed to integrate two different functional modes: a prosthetic application and a remote application. The prosthetic application is intended to emulate existing prosthetic devices using myoelectric sensors. The remote application is conceived as a tool for prevention, by providing the general public with a device that could carry out activities that entail a risk of severe physical injury. This is achieved using a hand-tracking system that allows the robotic arm to copy the user's movements remotely and in real time. The outcome of the validation tests has been considerably successful for both applications and the total costs are on target.

1. Introduction

Currently, there are an estimated 2 million hand amputees worldwide [1]. Most of them have no prosthesis, some can afford hooks, and only a few have robotic hands. Over recent decades, the prosthesis sector has undergone great technological advances. Nowadays, it offers many innovative products that only a few can actually afford [2]. Although some initiatives and companies have started developing prosthetic limbs using 3D printing procedures, this field is still not consolidated [3]. However, this option has been demonstrated to be very promising in terms of budget and adaptability [1]. The project we report herein covers the development of a 3D-printed artificial arm. The device we present combines a purely prosthetic application with a remote application that is more focused on prevention of the injuries that lead to many amputations. Keeping the budget as low as possible was a basic requirement.

The main objectives of this project consist of:

- manufacturing and assembling a functional 3D-printed upper limb
- providing interaction with a biomedical sensor without an attached PC
- inclusion of hand tracking remote control
- independent finger movement
- a maximum budget of 3000€

2. Methodology

The project is centered on the functionality of the limb. It does not go into the design of the different parts or the biocompatibility of the materials in depth, as it is more focused in the development of the software that allows the movement of the limb. Thus, part of the work involves hardware and 3D printing procedures, while the design of the parts is obtained from an open-source robotics project [4]. The aim is to create a 3D-printed prototype that features two main applications. The first application is the “prosthetic application”, oriented to help people with disability. It implements MyoWare [5] myoelectric sensors to command the limb as a natural extension of the body. The second application is known as a “remote application” which is oriented to the general public and is seen as a means of accident prevention. The idea is to provide a tool that allows high-risk activities to be performed without compromising the user's body. The application implements a hand tracking system that uses a Leap Motion [6] infrared sensor to acquire the hand parameters with a script written in a Python environment and sends commands to the artificial limb through XBee communication protocols [7], while the user is at a safe distance.

All the pieces that make up the robot have been 3D printed using a Prusa i3 3D Printer [8]. The structural parts are made of black Acrylonitrile Butadiene Styrene (ABS) plastic. White Poly Lactic Acid (PLA) was chosen to build the pieces that are not subjected to external forces and require a more aesthetic result, such as the hand, fingers and covers.

The basic software for the artificial limb movement was developed from the Arduino IDE. The Arduino coding language is based on C/C++ [9] and the IDE comes with several libraries. Moreover, a connection adapter circuit was developed to work as a custom-made Arduino Shield. This allows all the necessary connections while keeping the design simple, compact and robust. It constitutes a key feature of the device, as the system will be placed in motion.

3. Results

3.1. Manufacture and assembly

The fully assembled limb features independent finger movements, wrist rotation, elbow movement, and shoulder rotation about two axes (Figure 1).



Figure 1. 3D-printed robotic prosthetic arm

Servo extension cables have been used to allow the servo motors to reach the Arduino Board, which is the control unit placed behind the shoulder.

The fingers are controlled via thin cables connected to servomotors placed in the forearm. Each fingertip has two such braided cables attached to it that pass through the different parts until they reach the sides of a motor actuator (Figure 2). These cables emulate human tendons. Each finger is made up of three joints. The use of cables avoids the need for a motor at each finger joint. The servomotor of each finger is able to rotate 90°. The tension in the cables will vary depending on the position of the actuator, modifying the degree of flexion of the finger. The extension springs in the forearm were to be placed in such a way as to avoid excessive tension from the tendons, which may have limited wrist rotation.

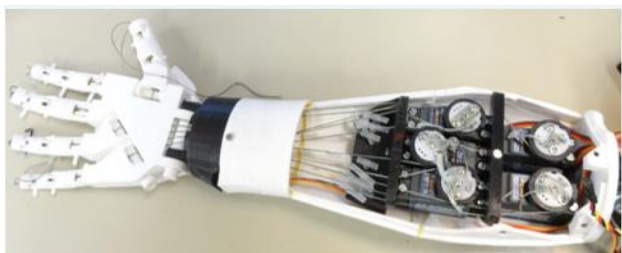


Figure 2. Hand and fingers mechanism

The wrist mechanism of the robotic arm has a servomotor placed inside it that allows rotations of up to 180°. Notice that the different parts of the mechanism have holes to allow the braided tendon cables that move the fingers to pass through (Figure 3). Due to the excessive tension exerted by these tendon cables, this articulation remains unused at the moment.

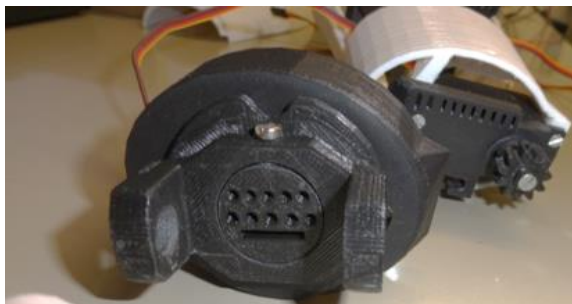


Figure 3. Wrist mechanism

The motors corresponding to the elbow and the shoulder had their potentiometers removed from inside so as to adapt the rotation of the servo to the position of the limb. In a servomotor, the actuator rotates until it becomes aligned with the potentiometer. Normally, the potentiometer is placed inside the motor, so the rotation is performed against itself. By removing the potentiometer from inside and placing it somewhere else, the angle of rotation adapts to the range of the articulation. To move the elbow, a servomotor is placed at the top of the forearm. It has a rod attached to its actuator. When an order is sent, the actuator rotates inside its counterpart, lifting the forearm up to 65° (assuming the resting state is when the arm is extended, which corresponds to the 5° position). The shoulder articulation is made up of two mechanisms that permit rotation about two axes. The mechanisms are basically the same for the two shoulder motors (Figure 4).

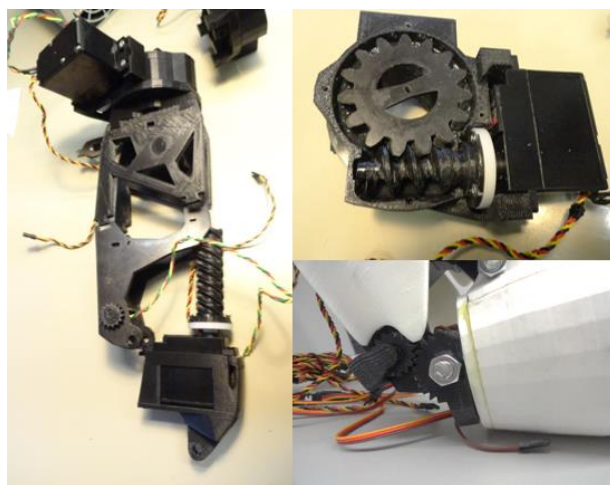


Figure 4. Elbow and shoulder mechanism

The actuators have a rod attached to them. When the motor rotates, the rod moves the gear which is screwed to the part which acts as the biceps in the rotating case, or to the curved part of the shoulder in the case of the lifting shoulder motor. Notice the gear has a hole in its center where the potentiometer is placed. Thus, if a 90° order is sent to the motor, the actuator will keep turning until the gear completes that angle of rotation.

3.2. Software Development

The program for the prosthetic application reads the electrical signal from the four MyoWare sensors placed on the user's body. Each analog input comes from a targeted muscle group and is directed to a specific set of motors that controls a joint of the robotic arm (Figure 5). On contracting a targeted muscle, the myoelectric sensor detects increased electrical activity. If the defined threshold is reached, the Arduino Board sends an order to the corresponding motors, which move until the subject stops contracting the muscle group. If the threshold is not passed, the motors stay in their default position. This threshold may be set to a different value for each targeted muscle group, depending on the conditions. As the script is deployed to the Arduino Uno board and runs automatically, no computer connection is required.

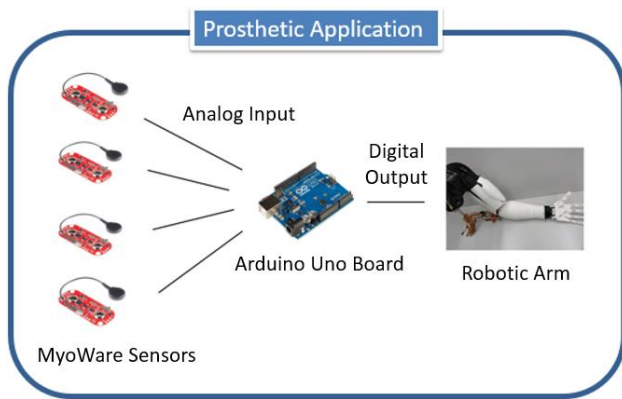


Figure 5. Prosthetic application software architecture

The remote application senses the user’s movements and translates the data into servomotor orders that instruct the artificial limb to copy the subject’s arm motion. This process has been divided in two parts. The first step is devoted to gathering information from the user’s movement with the Leap Motion sensor, processing it, and sending it to the Arduino Uno board. The second step consists of receiving the data and using it to move the robotic arm (Figure 6.)

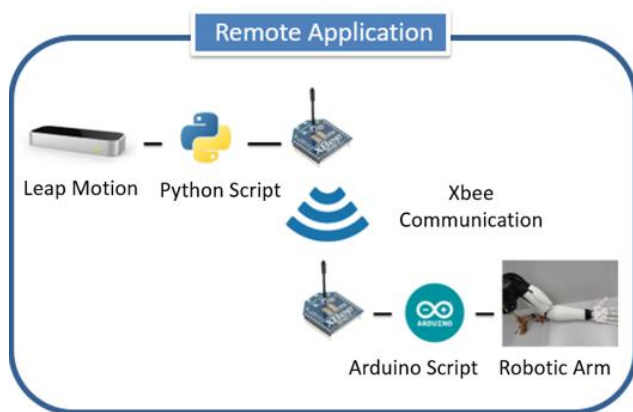


Figure 6. Remote application software architecture

The first part has been developed in Python. The script includes a Leap Motion library that allows the built-in classes that define hands, fingers, bones and even some gestures to be accessed. The python script accesses the data generated by the Leap Motion sensor, reads the parameters marked as relevant and processes the information. Finally, it sends a string of data that is received by the Arduino Board. The data string is formed of 18 characters separated by commas. Each pair of characters corresponds to an order directed at a specific servomotor. The resulting data frame is transmitted using XBee communication protocols. When received by the Arduino Board, it is split into nine different commands: one for each servo motor attached to the robot. Notice that the computer processor is more powerful than that inside the Arduino Uno Board. Thus, it is advisable to leave the processing operations to the Python script running in the computer, so the Arduino script only has to split the data and simply pass it to the motors.

3.3. Hardware Development

The large number of elements in the set-up of each application require robust hardware design, which should avoid unnecessary wiring and ensure the reliability of the connections. Each application comes with its own shield, which is specially adapted to its functionality.

The prosthetic application set-up includes connection to the MyoWare myoelectric sensors which generate the signals to actuate the servomotors. Those sensors need a supply voltage of 3.3 V and draw a current of 9 mA each; while the motors require at least 5 V and when forced could draw a current of 1 A. As there will be several motors working at the same time, it is advisable to isolate the motor supply from the rest of the electronic components (Figure 7).

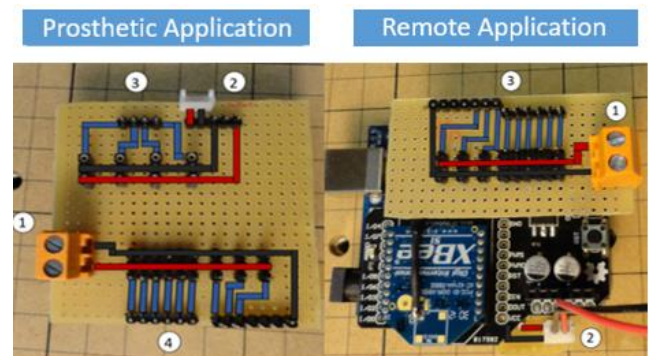


Figure 7. Hardware adapter circuits: (1) Power supply connector (5 V–10 A). (2) JST battery connector (9 V). (3) MyoWare analog input pins. (4) Servomotor digital output pins

The remote application set-up includes the Leap Motion hand-tracking sensor, which is plugged into the computer. Therefore, the circuit only requires the Arduino Uno power supply and the pins that facilitate the motor connections. The circuit board had to be resized to fit the XBee shield pins and the space for the antenna had to be respected. The JST battery connector had to be placed between the Arduino Board and the XBee shield because the GND and Vin pins were not accessible from the outside.

3.4. Experimental validation

The articulation mechanisms were tested before and after assembly, and their behavior observed, using an Arduino script. Given that the wrist mechanism was impaired, the corresponding hand rotations were redirected to the rotate motor instead and the results were satisfactory, as can be seen in a video presented in [10]. Regarding the prosthetic application, even though the system worked most of the time, there was often signal overlapping from the different sensors which is thought to have been caused by the use of surface electrodes. Moreover, the control of the application improved on training, as can be observed in the demonstration presented in [11]. Regarding the remote application, the overall performance was correct and the independent finger movement feature was checked and successfully validated, as can be seen in [12].

4. Discussion

All the parts of the robot were produced using a 3D printer. Depending on the printing material, plus the size and shape of the part, the printing process had to be repeated until the output reached the necessary quality. Once the assembly stage was finished, the artificial upper-limb could move thanks to the different servo motors placed inside the structure, thus making it functional.

The robotic arm was subjected to different validation tests to ensure its functionality. Although it could move all the articulations in the ranges defined, it was observed that the range of movement of the wrist was affected on assembly. The excessive tension applied by the finger tendons limits the wrist rotation. To address this issue, a system of extension springs was placed inside the forearm to keep the tendons in constant tension without impairing the wrist mechanism. Sadly, the springs we acquired were smaller than required, to the point that they underwent plastic deformation and had to be removed. A resolution of this issue would be to purchase larger extension springs, so that their deformation would always be elastic. The performance of the other motors was correct. The artificial limb, which has an anthropomorphic design, is able to mimic human movements. The motors were strategically placed to emulate the articulations of the human arm. Moreover, their ranges of rotation were adapted to resemble natural human movements. An example of this are the elbow, and shoulder rotating and lifting motors, which had their potentiometer removed so the degrees of rotation would not be applied about the motor itself, but about the natural articulation axis instead. For this first prototype, the power supply for the motor was a PC power supply. The next step would be to substitute that power supply with a 5 V – 9 A battery.

Independent finger movement was implemented for the remote application, but not for the prosthetic application. The reason behind that decision was that the use of surface electrodes with the sensors we used does not provide the necessary resolution to differentiate the signal coming from each finger. This could be achieved using implanted electrodes, but that would require surgery. The use of surface electrodes for this prototype negatively affected the precision of the application and often caused overlapping between the myoelectric signals. This is particularly common if the subject has not been trained. However, the application can control the artificial limb effectively using the myoelectric sensors placed on the body. The script that controls this application can run independently on the Arduino Uno board. Therefore, the artificial limb does not need to be connected to a computer to work properly.

Concerning the remote application, the Leap Motion sensor provides data from fingertips to elbow. The upper-elbow joint rotations were estimated from the position and orientation of the hand. The precision of the finger gestures could be improved by taking into account the velocity of the user's movements and translating that information to the motors. The results of the XBee communication were very satisfactory in terms of velocity, accuracy and

working distance. In addition, a custom-made support is crucial for the product to develop its full potential.

To conclude, the total cost of the project was €586.78. Adding up the research salaries, the cost would come to €2086.78. This fits the budget objective which was set at €3000. Given a hypothetical case in which the 3D printer had to be acquired too, the final cost for the project would be €2536.78, and would still meet the objective.

5. Conclusions

This project developed a functional 3D-printed prosthetic arm on a limited budget. In order to achieve this, all the parts were 3D printed and assembled. Two software applications were developed. The first uses EMG sensors for prosthetic control; the other allows the robotic arm to be controlled remotely using an infrared hand-tracking sensor. Although there are still some unresolved issues, related to its weight, the use of myoelectric surface electrodes and the lack of a custom-made support for the artificial limb, the results are extremely promising.

Acknowledgements

Special thanks to AESS Estudiantes [13] for allowing me access to their 3D printer and a workplace where I could develop my ideas. I would also like to thank to the Faculty of Medicine for providing me with the opportunity and a grant to attend CASEIB 2016.

References

- [1] Open Bionics. <http://www.openbionics.com> (March 2015)
- [2] Touch Bionics. <http://www.touchbionics.com/products> (March 2015)
- [3] Enabling the Future. <http://enablingthefuture.org/tag/3d-printed-prosthetics/>. (March 2015)
- [4] Inmoov. <http://www.inmoov.fr> (November 2015)
- [5] Myoware Muscle Sensor. <http://www.advancertechnologies.com/p/myoware.html> (January 2016)
- [6] Leap Motion. <https://www.leapmotion.com> (January 2016)
- [7] XBee. <http://www.digi.com/lp/xbee> (January 2016)
- [8] Prusa i3. <http://printhatshit.com/es/impresoras-3d-93-pack-prusa-i3-pts.html> (January 2016)
- [9] Arduino Uno. <https://www.arduino.cc> (January 2016).
- [10] Motor Validation. <https://www.youtube.com/watch?v=lzOKtnU6Z9Q> (June 2016)
- [11] MyoWare Validation. <https://www.youtube.com/watch?v=O6m259RkjU4> (June 2016)
- [12] Leap Motion Validation. <https://www.youtube.com/watch?v=JFpPH2hhHek> (June 2016).
- [13] AESS Estudiantes. <http://aess.upc.es> (June 2016)

Development of a multiplexer for an automatic data acquisition system for the control and monitoring of microbiological cultures

A. Morales Rondón, J. Paredes Puente, S. Arana Alonso

Microelectronics and Microsystems Department, CEIT and Tecnun (University of Navarra), Manuel de Lardizabal 15, 20018 San Sebastián, Spain, www.tecnun.es

Summary

An automatic data acquisition system has been developed for the control and monitoring of microbiological cultures. Turning an otherwise time-consuming process into a smooth one, by allowing the researcher to set the parameters at the beginning of the experiment and move on into the next task. The development of the hardware and software are key to achieving this system. The mux is custom-made with 22 channels, light weight therefore easy to move around the lab. Furthermore, the software allows the researcher to check the measurements in real-time. It is based on virtual instrumentation software therefore new features can be added easily, thus, the mux is capable of adapting to the scientist necessities.

1. Introduction

Brettanomyces, or *Brett*, is a non-spore form of yeast, which is important in the wine and cider industries due to sensory compounds it produces. In general, is an unwanted by product due to its ability to produce volatile phenols that results in off-odors and losses of fruity sensorial qualities [1,2]. *Brett* grows under the right conditions, which is why the wine and cider fermentation process require a thorough control of both physical and microbiological parameters to obtain the best products.

The Inter-digitated array microelectrode sensors (IDAM) are very common structures largely used in these kinds of experiments [3]. As the microorganism, *Brett*, grows and attaches to its surface there will be a change in impedance. Currently, there is no efficient and rapid method for detecting it or anticipating its presence. [3] Therefore, researchers are trying to develop a label-free interdigitated microelectrode biosensor that could do just that. In order to do this, many experiments will have to take place to measure the impedance of sensors with different geometries, material and under different conditions similar to those in real life; with the purpose of seeing which design holds a proportionality with the yeast fermented.

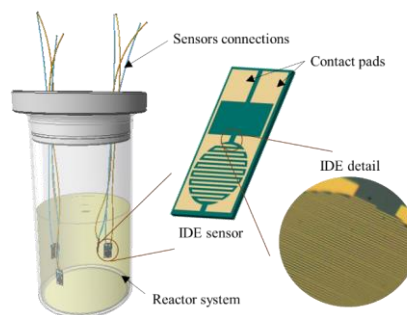


Figure 1. CAD design of the bioreactor including a schematic of an interdigitated sensor.

An impedance analyzer must be used to perform these assays, unfortunately is a mono-channel device. Therefore, measurements have to be taken one by one manually by the researcher over long periods of time. Since there will be multiple sensors with different geometries, materials and conditions, the researcher will have to repeat the process multiple times. This method is inefficient and lowers the reliability on the results and productivity of the scientist.

In order to do these experiments, it is almost necessary an automated multiplexing system to speed up the process. Using a mux, allows automatization of the data acquisition process in microbiological samples and cultures in laboratories, considerably reducing the researcher's workload.

Finally, although this multiplexer has been developed for an impedance analyzer it is worth mentioning its versatility, as long as proper software is designed and developed it can be translated into many different types of automated measurements.

2. Materials and methods

The main objective is the development of a multiplexer that with the proper software will allow for an automatic data acquisition system where the user can easily control and monitor measurements of microbiological cultures. The system must synchronically open one of the channels in the multiplexer, take a measurement, transfer the data to the PC and close the channel. Therefore, there are two

main tasks: hardware and software. Once they are both finished the system must be tested and validated.

2.1. Hardware materials

In order to design and build a custom mux a variety of electronic components will be needed. Bearing in mind that the main objective is to analyze the impedance in IDE based sensors in the lab then an impedance analyzer (Hioki IM 3570) will also be needed. Measurements will be done performing a sweep frequency, Hioki can go from 4Hz to 5MHz and test signal levels of 5 mV to 5 V. In addition, the software has to be able to control which of the channels will open, therefore all of them must be connected to a data acquisition board (USB-DIO96H), DAQ, which must be programmable.

The mux can have as many channels as desired, in this case is 22 channels to fit established dimensions. Each of them needs: seed relay, transistor (2N2222A), red LED (5 mm), resistor (4.7kΩ), diode (1N4148).

2.2. Software: system design and implementation

Accomplishing the automatization of a multiplexing system lies on being capable of putting in place an adequate virtual instrumentation software, which enables changing a device function by changing its software. Additionally, must be done using a user friendly graphical user interface.

Taking into account these requirements LabVIEW is chosen as the programming software. Moreover, both, impedance analyzer and DAQ board, have control drivers in LabVIEW, which means that no time has to be spend creating new ones thus accelerating the programming process.

The system aims to measure sequentially a number of channels and repeating this operation within a fixed time interval for as long as the user decides (Figure 2).

first the mux channel must open, then the Hioki measures the signal and finally the mux channel closes, this should repeat for every channel that is turn ON.

The key of the program is that the mux and the Hioki are completely synchronize, this will result in a measurement well taken. In addition, it is very important that the scientist is able to see a graph with the results displayed. Two types of graphs are needed:

- Argument/ magnitude vs. Frequency
- Argument/ magnitude vs. Time, the first parameter is shown for a constant frequency.

2.3. Experiment setup

Once the integration of the software and hardware is finished the result is an automated data acquisition system. The experiment setup is composed of a monitor, mux with DAQ, impedance analyzer and microbiological cultures with IDE sensors.

The monitor is a computer or laptop with LabVIEW and the software developed to control the mux (DAQ) and the impedance analyzer. The results will be stored here automatically to study later.

The multiplexer turns the impedance analyzer from mono-channel to 22 channels in this case. Along with its software allows the automatization of taking measurements.

The impedance analyzer will take the measurements of each sensor. These are located in different medium cultures, therefore, their impedance will change accordingly.

2.4. Characterization and system validation

Before assembling the mux, the circuit for a single channel is checked. The test is carried out by creating a sinusoidal signal with a function generator, the frequency is varied to make sure it works for all of them. Using an oscilloscope, the input and output signal are compared to see if they match.

Once the system is assembled an integrated the channels are examined to insure proper functioning. Capacitors are connected to each of the channels and a sweep frequency is carried out. Also, a sweep frequency of a capacitor is done directly connected to the Hioki and then compared to the ones using the mux.

In order to validate the system, an experiment is carried out using specific parameters. It will also be tested with capacitors on each channel. The Hioki parameters are the following: starting frequency 10Hz, final frequency 1 MHz, number of points/sweep 201, logarithmic scale, signal level 0.05V. Then, the experiment parameters are: 7 sequences with a 7-minute time interval and the file's name Test1. The system should be able to do a sweep frequency of each channel, store the data in a .txt file and display the graphs.

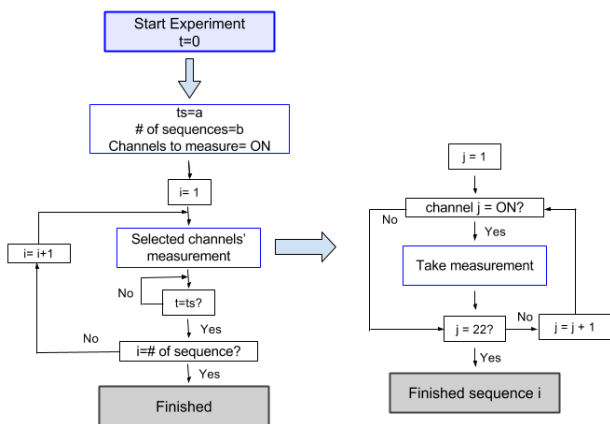


Figure 2. Scheme of the general overview of the software.

The variables a, b are configured by the user and are the time between sequences and the number of sequences to perform, respectively. From 22 available channels, the user must choose which one of them will be measuring (ON). Therefore, on the diagram on the right, it will run through all the channels, check which ones are ON, and take the measurement. In order to take the measurement,

3. Results

3.1. Hardware

The following image shows the final circuit used for the development of the multiplexer:

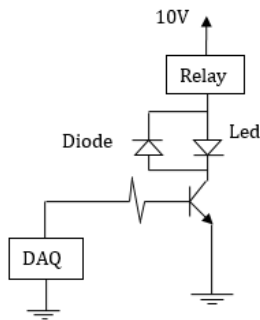


Figure 3. Mux circuit.

The transistor will act as a switch to turn on or off the rest of the circuit when the DAQ sends a signal. In order to act as a switch, it must be in saturation mode. A transistor in saturation mode acts like a short circuit between collector and emitter. That means V_{BE} must be greater than 0, and so must V_{BC} . In other words, V_B must be higher than both V_E and V_C . The following values are the measured voltages and currents from a multi-meter of the transistor:

Table 1. Measured values of the transistor.

Voltage	DAQ off	DAQ on
V_{BE}	0.1489 V	0.725 V
V_{BC}	9.23 V	0.701 V
V_{CE}	9.012 V	25.25 mV
Current		
I_B	0.00005 mA	0.5925 mA
I_C	0.00006 mA	8.624 mA
I_E	0.00006 mA	8.031 mA

Both conditions on the figure above, are met and therefore the transistor is in saturation mode. In addition, when the DAQ is off the current is practically zero which is the desired results. Furthermore, when the transistor is in saturation mode, both the current in the emitter and the collector are almost the same ($I_C = I_E$). Furthermore, the diode is used to protect the transistor from back current that could have stayed in the relays coil.

3.2. Software

The final software application has the following general outline, which will run sequentially as they are found in an orderly manner inside a flat sequence structure:

1. Initialize variables
2. Initialize connection between Hioki and mux
3. Load variables to Hioki
4. Select channels to measure
5. Set experiment parameters
6. Run experiment. Once is measuring then the following steps are made:

- a. After every measurement, display first type of graph
- b. After every sequence, display second type of graph

The graphical user interface is divided into 5 tabs; each one is comprised by some of the previous steps:

1. Hioki setup: steps 1-3
2. Channel selection: step 4
3. Run: steps 5-6
4. Channel display: step 7
5. Temporal display: step 8

3.3. Validation

Now, the results from the test at the beginning with the functions generator and the oscilloscope. The images in figure 4 are taken of the oscilloscope's screen, the signal on the top is the input signal and the bottom is the output signal at the relay.

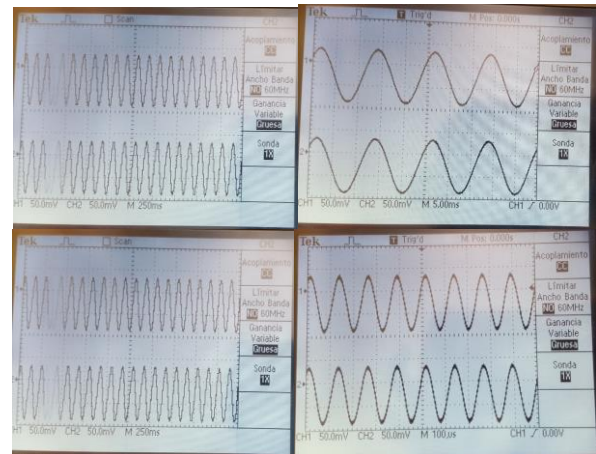


Figure 4. Oscilloscope when the channel is on. Freq. beginning in top left going clockwise: 8Hz, 80 Hz, 800 Hz, 7.94 kHz.

If the signals are placed on top of each other they are the same. Therefore, the initial signal and the one that comes through the relay are a match which means that the signal is not affected by the circuit. Furthermore, the relay works at different frequencies (increasing clockwise from top left).

Next, a sweep frequency is carried out in all of the channels which are connected to different capacitors. In figure 5, there are two different channels and it can be seen that the results are similar.

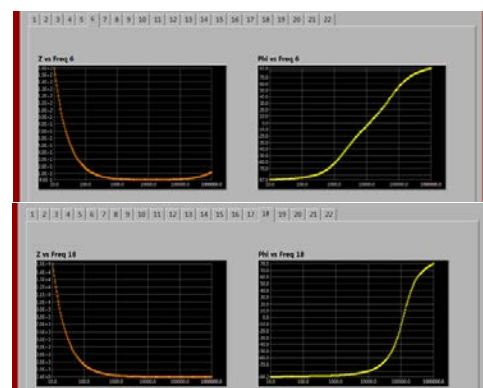


Figure 5. Front panel of the Channel Display tab for channel 6 and 18.

The image in the monitor is almost the same as the one in the Hioki screen. Thus, there is a little noise added to the signal because they are not exactly the same especially at low frequencies.



Figure 6. Mux and Hioki setup.

The physical setup of the impedance analyzer and the multiplexer is shown in figure 5. The photo has been taken when channel 6 is open and being measured.



Figure 7. Front panel of the Hioki Setup tab (top) and Temporal Display tab (bottom).

Finally, figure 7 shows the parameters screen and the graph display at the end of every sequence, respectively. The parameters in the Hioki coincide to those selected on the software control, thus, the impedance analyzer is governed by it. The channels change sequentially during each sequence, and the time between sequences coincides to that of an outside timer. Therefore, the timing is properly set. Furthermore, a .txt file is successfully created at the end of each sequence, this data can later be used for analysis.

4. Conclusions and future work

The design and implementation of an automatic data acquisition system has been accomplished, which is capable of taking sequential measurements of channels selected every so often. The result is an impedance analyzer that is mono-channel turns into a 22 channel one with its control software.

When carrying out an experiment the researcher is capable of defining the setup in the Hioki, channels that will be measured, how many times measurements will be taken and the time between them. These parameters are defined according to the experiment being carried out. Thus, the researcher only has to be present during the setup of the experiment initially. While the system is taking measurements automatically the researchers are able to take advantage of that time to further their work.

Thanks to labelling the cables with a color scheme is easy to identified which cable belongs to a channel. The device is not heavy, therefore is easy to move around in case an experiment setup is located elsewhere; but the Hioki and Laptop will also have to be moved. Due to its software, the mux is capable of adapting to the scientist necessities. The program offers a graphical user interface, which is user-friendly and intuitive for people who have worked before with the Hioki IM3570. Moreover, as a result of the graphs shown after every measurement or sequence, the researcher is able to check the measurements in real-time. Therefore, will be capable of making a judgement call to either stop or continue the experiments according to the results.

In the future, a study should be carried out to see if the influence of the mux on the measurements are in fact insignificant when comparing it to the measurements without it.

Acknowledgements

Finally, thanks to all previous organizing committees of CASEIB for giving us the opportunity to participate in the conference.

References

- [1] "Effectiveness of dimethydicarbonate to prevent Brettanomyces bruxellensis growth in wine" V. Renouf, P. Strehaiano, A. Lonvaud-Funel, Food Control, 19, 208 (2008).
- [2] "The production of ethylphenols in wine by yeasts of the genera Brettanomyces and Dekkera: a review" R. Suárez, J.A. Suárez-Lepe, A. Morata, F. Calderón, Food Chemistry, 102, 10 (2007).
- [3] Paredes, J., Becerro, S., Arizti, F., Aguinaga, A, Del Pozo, J.L., Arana, S., 2012. 38, 226–32.
- [4] Oelofse, A., Pretorius, I.S., Toit, M., 2008. 128–144.

Characterizing functional connectivity during rest in multiple sclerosis patients versus healthy volunteers using independent component analysis

L. Palacio García¹, R. Andrzejak¹, V. Prchkovska², P. Rodrigues²

¹ Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain, {laura.palacio01@estudiant.upf.edu, ralph.andrzejak@upf.edu}

² Mint Labs, Barcelona, Spain, {yesna@mint-labs.com, paulo@mint-labs.com}

Abstract

It is commonly thought that our brain is not active when it does not receive any external input. However, during rest, there are still certain distant regions of the brain that are functionally correlated between them: the so-called resting-state networks.

This functional connectivity of the brain is disrupted in many neurological diseases. In particular, it has been shown that one of the most studied resting-state networks (the default-mode network) is affected in multiple sclerosis, which is the most common disabling neurological condition affecting the central nervous system of young adults. In this work, I focus on the study of the differences in the resting-state networks between multiple sclerosis patients and healthy volunteers.

In order to study the effects of multiple sclerosis on the functional connectivity of the brain, a numerical method known as independent component analysis (ICA) is applied. This technique divides the resting-state fMRI data into independent components. Nonetheless, noise, which could be due to head motion or physiological artifacts, may corrupt the data by indicating a false activation.

Therefore, I create a web user interface that allows the user to manually classify all the independent components for a given subject. Eventually, the components classified as noise should be removed from the functional data in order to prevent them from taking part in any further analysis.

1. Introduction

Nowadays, the human brain still remains the most unknown and fascinating organ in the human body. That is why a lot of effort and research is being dedicated to study the brain. Functional connectivity is defined as the temporal correlation or dependency of neuronal activation patterns between anatomically separated brain regions [1].

Despite what is commonly thought, our brain is active while we sleep. This is how the so-called resting-state networks arise, which consist of anatomically separated but functionally linked brain regions that show a high level of ongoing functional connectivity during rest [1].

But why are neuroscientists so interested in studying these resting-state networks? The answer is simple. It has been suggested that altered resting-state functional connectivity patterns occur in a wide variety of neurodegenerative diseases such as multiple sclerosis [1].

Functional magnetic resonance imaging (fMRI) is used in order to explore the effects that neurological diseases

have on the human brain connectivity, [2]. This technique is commonly applied to study the functional connectivity of the human brain by mapping fluctuations in the blood oxygenation level-dependent (BOLD) signal [3].

Particularly, the level of spontaneous brain activity can be measured with resting-state fMRI, which is a technique that uses synchronous low-frequency resting-state BOLD fluctuations ($\approx 0.01 - 0.1$ Hz) from anatomically separated regions of the brain as an indicator of synchronous neuronal baseline activity of the brain [4]. Thus, resting-state fMRI can find the resting-state networks.

Resting-state fMRI is a technique that infers the connections of neuronal networks by measuring the correlation of low-frequency (< 0.1 Hz) BOLD-fMRI signal fluctuations between and within brain regions; and these low-frequency BOLD fluctuations are hypothesized to result from oscillations in neuronal activity synchronized within and across brain regions.

In contrast to these BOLD fluctuations, other low-frequency fluctuations are particularly problematic for resting-state functional connectivity analysis since they cause signals in different parts of the brain to be correlated when, in reality, they are not. These noise-related signal modulations could be induced by head motion or physiological confounds, such as cardiac and respiratory pulsations [4].

Thus, the presence of artifacts in the data represents a challenge for the correct identification of resting-state networks and the evaluation of their connectivity [5]. That is why a technique named independent component analysis (ICA) can be effective when it comes to separating these noisy effects from a variety of different coherent resting-state networks. ICA is a powerful data-driven method used to derive maps of functional connectivity by decomposing a two-dimensional (time-voxels) resting-state fMRI data matrix into a set of time courses and associated spatial maps [6].

Therefore, by dividing the data into different independent components, if noise sources are independent from neural activity-related BOLD fluctuations, ICA isolates one type of signal from the other. Eventually, all the components that are identified as noise should be removed from the data.

We perform independent component analysis using MELODIC (Multivariate Exploratory Linear Optimized Decomposition into Independent Components), which is a tool in FSL (FMRIB Software Library).

In order to clean the functional data for every subject, we run single-session ICA for every subject as well. Thus, MELODIC extracts a different number of independent components for each subject's resting-state fMRI data. Usually, the independent components are manually classified as either noise or signal. However, although manual classification is very accurate, it requires an expert and a lot of time. That is why we want to use a tool that automatically classifies these components based on a training dataset. In order to build this training dataset, I created a web user interface using Flask, a web framework written in Python and based on a Jinja2 template engine, quite similar to coding in HyperText Markup Language (HTML). Then, another programming language named Cascading Style Sheets (CSS) is needed in order to define the structure and style of the HTML web page.

The aim of this interface is to provide the user with an intuitive tool that allows him/her to manually classify every independent component for any selected subject. The spatial map, time course and power spectrum of an independent component all play an important role when it comes to ensure its correct classification. Particularly, we need to manually classify at least ten different subjects with the web user interface in order to build a training dataset using FIX (FMRIB's ICA-based Xnoiseifier), another available tool from FSL.

Hence, FIX automatically classifies all the components for the rest of the subjects by applying the training dataset into their respective fMRI data. This automatic classification allows spending much less time classifying the independent components for most of the subjects.

Then, the combined cleaned data for all the individual subjects of both groups (patients and controls) is the input of the group-level analysis that needs to be performed. We run multi-session ICA in MELODIC, which creates a template of resting-state networks, which are resting-state networks averaged across all subjects. These group-average resting-state networks will later be used by another FSL tool named dual regression, which is used to investigate group differences. Dual regression compares all the independent components between patients and controls, consequently finding differences in their group-average resting-state networks. This comparison between multiple sclerosis patients and healthy volunteers will reveal the importance of understanding how neurodegenerative diseases, such as multiple sclerosis, affect the brain.

2. Methodology

Mint Labs [7] is the start-up company that supported this study and provided the available data.

2.1. Single-session independent component analysis

The initial analysis we conduct is single-session ICA, which applies independent component analysis on a single subject after having preprocessed the data. MELODIC decomposes each input fMRI data matrix separately into pairs of time courses and spatial maps for every independent component [8] (Fig. 1).

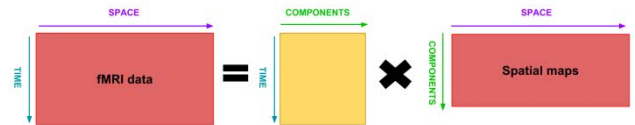


Figure 1. Schematic drawing of the single-session independent component analysis in MELODIC according to [8].

Together, these sets of time courses and associated spatial maps describe the temporal and spatial characteristics of underlying hidden signals, known as independent components [6]. Moreover, the third output of performing single-session ICA using MELODIC is the power spectrum of the time course for each component.

As previously stated, ICA is suitable in order to clean the functional data since it separates noisy artifacts from the resting-state networks. In order to do that, the independent components obtained from running single-session ICA should be classified as either signal or noise components. This classification is done using the interface I created. Nonetheless, before focusing on the interface, we must establish some criteria for the correct labeling of these components. This labeling decision is based on the visual inspection of the thresholded spatial map, time course and power spectrum of every component according to Kelly in 2010 [9].

- **Spatial map:** A component is classified as noise if it shows predominantly (90% or more) activation or deactivation in peripheral areas or edges of the brain [9], which is known as a ring pattern (Fig. 2a). Furthermore, slabbing is a noise term used when there are large areas of activation that do not respect the white matter and grey matter boundaries [9] (Fig. 2b). Mostly, these mentioned types of noise appear due to the subject's head motion.

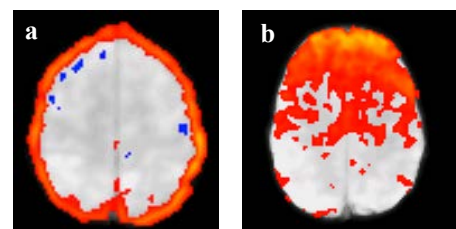


Figure 2. A ring pattern (a) and slabbing (b) are different types of noise localized in the thresholded spatial map of our independent components.

- **Time course:** We can identify a noise component if its time course contains either drifts, large spikes or a saw-tooth pattern (Fig. 3). The latter is represented as a sharply and regularly alternating up-and-down time course [9].

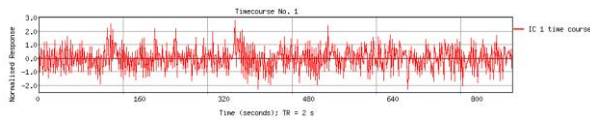


Figure 3. A saw-tooth pattern is the most common noise found in the time course.

- **Power spectrum:** A component should be labeled as noise if more than 50% of the power in the Fourier frequency spectrum lies above 0.1 Hz [9] (Fig. 4).

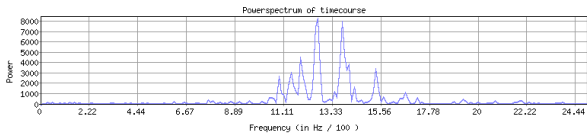


Figure 4. High frequencies in the power spectrum indicate the presence of noise.

In addition, we can label a component as signal by identifying a resting-state network in its spatial map. The default-mode network is the one we are interested in studying and it includes regions in the medial prefrontal cortex (mPFC), the posterior cingulate cortex (PCC), the precuneus, and the bilateral parietal cortex. Such regions were activated in a spatial map of a component (Fig. 5), leading to the identification of the default-mode network.

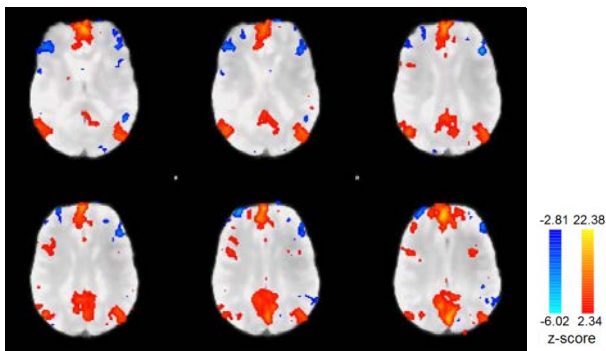


Figure 5. The default-mode network is detected in a spatial map of one of our independent components.

2.2. Web user interface: Classification of independent components

I created a web user interface in order to classify the independent components based on the criteria detailed in the previous subsection. As previously mentioned, the web user interface is written in Flask, which connects a Python code to an HTML/CSS code.

The aim of this study is to compare the resting-state networks of 92 multiple sclerosis patients with those of ten healthy volunteers in order to reveal how this neurodegenerative disease affects the brain.

In order to do so, single-session ICA must be performed on the resting-state functional data of every subject (both patients and controls) using MELODIC. This produces a different number of independent components for every subject although, on average, there are approximately 50. Every component has its own thresholded spatial map, variance-normalized time course and frequency power spectrum. These three characteristics allow us to correctly classify the component as either noise or signal. Otherwise, the component is classified as unknown.

Next, the independent components of ten controls and ten patients are manually classified using the interface. Despite having already classified all the controls, there are still 82 patients that do not have their components classified. That is because it is done automatically thanks to FIX, saving the user a lot of tedious work.

Following this background explanation, I will now focus on the main features of the interface and how it works. Initially, the user must choose to classify the components of patients or controls. There are three different options for labeling a component: noise, signal or unknown. In order to select one of these three and classify the component, we need to take into account the spatial map, the time course and the power spectrum. The images of the next component update after the user classifies the first component (Fig. 6).

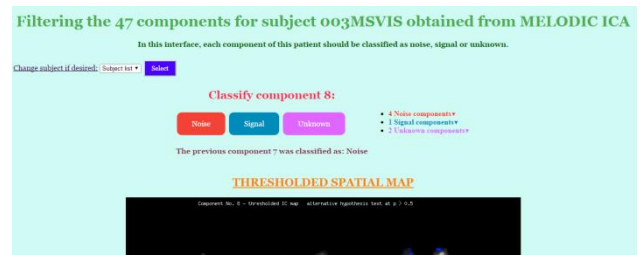


Figure 6. The web page refreshes every time a new component is classified and it shows a list of all the previously classified components on the right.

Finally, after the user is done classifying all the components of a given subject, the interface creates a web page showing the classification results for all the components, in addition to a final list that only contains the noise components (Fig. 7). This web page containing the results is also an output file, in a text file format, generated by the interface.



Figure 7. Web page showing the results of the classification for every component of a given subject. Notice that this figure is cut and components 21-34 are not shown for space constraints.

Next, the user must classify the subsequent subject repeating the same procedure. The process is finalized when the user has classified all the components for all the ten controls or for all the patients in the training list. As for the patients, since the user has only classified ten of them, the next step is to build a training dataset using FIX

thanks to these ten files created by the interface. Having a good training dataset is vital in order for FIX to correctly classify the components (as either noise or signal) for the rest of the patients that are not part of the training dataset. Thus, running FIX on the rest of the data automatizes a process that can be very tedious if done manually.

In order to clean the 4D resting-state fMRI data for all subjects, we need to remove the noise components and keep the neural signals of interest.

2.3. Group-level independent component analysis

Apart from single-session ICA, another type of analysis that can be performed with MELODIC is multisession temporal concatenation ICA. The input of this analysis is the clean and registered resting-state functional data of the combined set of subjects, which includes all controls and multiple sclerosis patients. Group-level ICA obtains the group-average independent components, which refer to an average taken across all patients and controls. Finally, using dual regression, we compare the average resting-state networks between both groups in order to identify significant differences between both of them.

Therefore, multi-session temporal concatenation ICA creates templates of resting-state networks, which are the maps of the resting-state networks that are common to all the subjects, as it is an average across all patients and controls.

Finally, the last step is dual regression, which compares all the spatial maps across groups of subjects to look for group differences. Given the two independent groups, we perform an unpaired two sample *t*-test, which tests the null hypothesis that the two population means are equal. Particularly, we tested the null hypothesis that the spatial maps of the group-average resting-state networks of patients are the same as the ones of controls.

Consequently, the Z-statistics test results in a *p*-value for every voxel, which helps to determine the significance of your results. Specifically, a *p*-value is the probability of obtaining this result or a more extreme one if the null hypothesis is true. Usually, the significance level is $\alpha = 0.05$. Rejecting the null hypothesis suggests that the spatial maps of our group-average resting-state networks of patients are not the same as the ones of controls.

Thus, if we run our analysis and we obtain a *p*-value smaller than 0.05, then the result is significant and we reject the null hypothesis. Otherwise, it is not significant because there is more probability of having obtained the specific result by random chance and not due to the effects of multiple sclerosis.

3. Discussion and conclusions

In this study, I created a useful tool for the manual classification of independent components. This is the web user interface, which permits to manually classify the components for different subjects in a more intuitive way. It also builds a training dataset that is later applied to the rest of the patients in order to automatically classify their components with an FSL tool named FIX. Such classification for all the independent components of every

subject is used to clean the functional data by removing all the noise components. In the near future, the aim is to incorporate my interface as a tool inside the Mint Labs platform.

Acknowledgements

This work was presented as a Bachelor thesis in the Biomedical Engineering degree at Universitat Pompeu Fabra (Barcelona, Spain). I am very grateful to both my university, specially my tutor Ralph G. Andrzejak, and the whole team at Mint Labs for providing support for this research. Also, special thanks to Ludovica Griffanti and Matthew Webster, from the Oxford Centre for Functional MRI of the Brain (FMRIB) at the University of Oxford, for their guidance on working with FSL.

Finally, I would also like to thank the previous organizing committees of CASEIB for their kindness by allowing us to use their style guides as a reference for the realization of this document.

References

- [1] M. P. Van Den Heuvel and H. E. H. Pol, "Exploring the brain network: a review on resting-state fMRI functional connectivity," *European Neuropsychopharmacology*, vol. 20, no. 8, pp. 519-534, 2010.
- [2] K. R. Van Dijk, T. Hedden, A. Venkataraman, K. C. Evans, S. W. Lazar, and R. L. Buckner, "Intrinsic functional connectivity as a tool for human connectomics: theory, properties, and optimization", *Journal of Neurophysiology*, vol. 103, no. 1, pp. 297-321, 2010.
- [3] J. Damoiseaux, S. Rombouts, F. Barkhof, P. Scheltens, C. Stam, S. M. Smith, and C. Beckmann, "Consistent resting-state networks across healthy subjects", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 103, no. 37, pp. 13848-13853, 2006.
- [4] K. Murphy, R. M. Birn, and P. A. Bandettini, "Resting-state fMRI confounds and cleanup", *Neuroimage*, vol. 80, pp. 349-359, 2013.
- [5] L. Griffanti, O. Dìpasquale, M. Laganà, R. Nemni, M. Clerici, S. Smith, G. Baselli, and F. Baglio, "How the cleaning of resting state fMRI data affects the detection of functional connectivity alterations in Alzheimer's disease", *Proceedings of the International Society for Magnetic Resonance in Medicine*, Milan, Italy, 2014.
- [6] C. F. Beckmann, M. DeLuca, J. T. Devlin, and S. M. Smith, "Investigations into resting-state connectivity using independent component analysis", *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, vol. 360, no. 1457, pp. 1001-1013, 2005.
- [7] "Mint Labs: Medical Innovation and Technology Laboratories." [Online]. Available: <http://www.mint-labs.com/>, 2016. [Accessed March 20, 2016].
- [8] M. Jenkinson, "MELODIC." [Online]. Available: <http://fsl.fmrib.ox.ac.uk/fsl/fslwiki/MELODIC>, 2013. [Accessed March 30, 2016].
- [9] R. E. Kelly, G. S. Alexopoulos, Z. Wang, F. M. Gunning, C. F. Murphy, S. S. Morimoto, D. Kanellopoulos, Z. Jia, K. O. Lim, and M. J. Hoptman, "Visual inspection of independent components: defining a procedure for artifact removal from fMRI data", *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 189, no. 2, pp. 233-245, 2010.

A new clinical tool for the quantification of myocardial CT perfusion imaging in patients with suspected Ischemic Heart Disease

<A>. Ruiz Muñoz¹, <L>. Dux-Santoy Hurtado², <JF>. Rodríguez Palomares², <G>. Piella Fenoy¹

¹ Department of Information and Communication Technologies, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, España.

² Cardiac Imaging Unit, Hospital Universitari Vall d'Hebrón, Barcelona, España.

Abstract

In the clinical practice, the evaluation of myocardial perfusion by using Computed Tomography (CT) Imaging is usually performed visually or semi-quantitatively. The scarcity of quantitative perfusion data not always allows a proper diagnose of patients which are suspected of suffering from some diseases, such as Ischemic Heart Disease (IHD). In this work, a clinical tool for the automatic quantification of myocardial perfusion in patients with suspected IHD is proposed. Myocardial perfusion is assessed based on a combined diagnosis protocol (CT/CTP protocol) which involves the acquisition of two contrast-enhanced CT images, one obtained at rest and another acquired under pharmacological stress.

The clinical tool allows the automatic quantification of perfusion in different myocardial segments defined according to the 16-AHA-segmentation model of the left ventricle, by providing the mean of Hounsfield Units in those regions. Based on this analysis, the clinicians can compare the values at baseline and at hyperemia, and they can better determine hypoperfusion defects in patients with IHD.

The validation of the clinical tool was performed by comparing automatic and manual perfusion measurements of 10 patients with suspected IHD who were previously assessed with Single Photon Emission Computed Tomography (SPECT) for perfusion analysis. A strong linear correlation was found between the automatic and manual results. Afterwards, perfusion defects obtained from CT/CTP protocol were compared to perfusion defects from SPECT, to assess the applicability of this clinical tool for the diagnosis of IHD.

1. Introduction

The diagnosis of IHD is a tedious task since it requires several clinical tests to identify the lesions in coronary arteries (mainly due to atherosclerosis) and the real consequences of them in myocardial perfusion. Since there is not always correlation between the severity of the coronary artery disease and the presence of perfusion defects, the realization of tests providing anatomical and functional information is necessary. There is a great interest in optimizing the process and assessment of patients with suspected IHD and finding an image modality that gives these two types of information in a single examination.

Multiple studies suggest that combining myocardial CT with Computed Tomography Perfusion (CTP) Imaging is a good option for that. The reason is that this protocol enables the visualization of coronary arteries at high resolution to detect stenosis, as well as, the study of

perfusion in different areas of the myocardium to determine the hemodynamic significance of those coronary lesions [1]–[5]. In this case, perfusion analysis is performed using two contrast-enhanced CT images, one obtained at rest and another one obtained at pharmacologic stress, and comparing the amount of blood in different regions of the left ventricle. These regions are defined according to the 16-AHA-segmentation model and the amount of blood is quantified with the number of Hounsfield Units in each AHA-segment. Thus, perfusion defects are determined by comparing perfusion values (i.e. Hounsfield Units in each segment) at baseline and at hyperemia. Although this procedure is not fully established in clinical practice, there are many studies corroborating its reliability and efficacy.

Determining hypoperfused areas using CTP Imaging is usually done by visual inspection or by semi-quantitative analysis [1], [2]. Therefore, there is a lack of quantitative perfusion data [1], [5]. Although some clinical tools to quantify myocardial CT perfusion are already available, they are manual and time consuming. For that reason, a clinical tool for the automatic quantification of myocardial perfusion is proposed. This tool allows the assessment of perfusion defects in patients with suspected IHD, based on CT/CTP Imaging.

2. Methods

2.1. The clinical tool for the automatic quantification of myocardial perfusion

The clinical tool for the quantitative analysis of myocardial perfusion was implemented in a graphical user interface (GUI) developed with MATLAB. This tool uses as inputs the three transversal sections (basal, mid and apical) obtained from the CT image at rest, and the three transversal sections obtained from the CT image at stress (Figure 1). The GUI has several functionalities distributed in four different panels (Figure 2). These functionalities are the following:

- Specifying the degree of stenosis in each coronary segment defined according to the Coronary Segmentation Diagram of the Society of Cardiovascular Computed Tomography.
- Comparing the HU measurements obtained from rest images with those obtained from stress images.

- Differentiating myocardial segments after the (automatic) 16-AHA-segmentation.
- Visualizing perfusion in different segments with a colormap, to facilitate the distinction of hypoperfused regions and to distinguish real lesions from image artifacts.
- Showing HU values at rest and at pharmacological stress in two bull's eye plots.
- Determining the viability of each AHA-segment, i.e. defining which segments are healthy, which ones are ischemic (and the characteristics of ischemia) and which ones are necrotic.
- Acquiring two types of reports (clinical or extensive) with information about the lesions in coronary arteries and the perfusion analysis.

2.2. Quantification of perfusion in myocardial segments

Quantification of perfusion is performed by estimating the amount of blood that reaches each myocardial segment (16- segment AHA model) based on the mean of the HU in the corresponding segments. Perfusion measurements are calculated not only in the entire segment but also in the subendocardium and subepicardium. This is important to determine the extension of ischemia or necrosis throughout segments.

The first step is to extract the left ventricle wall from each CT image in the short axis view. At the beginning, the user should crop the region of interest that includes the left ventricle, the right ventricle and the lumen, and select

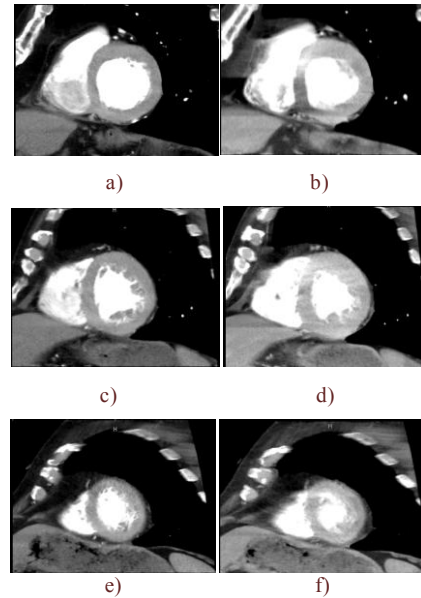
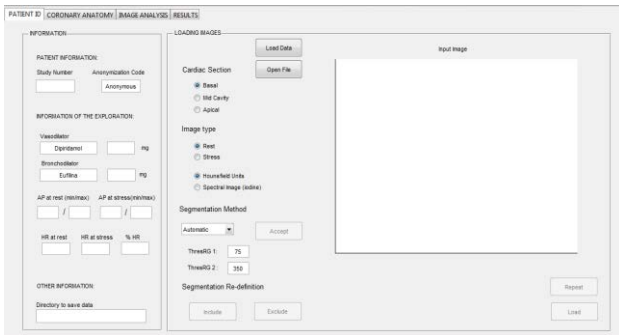
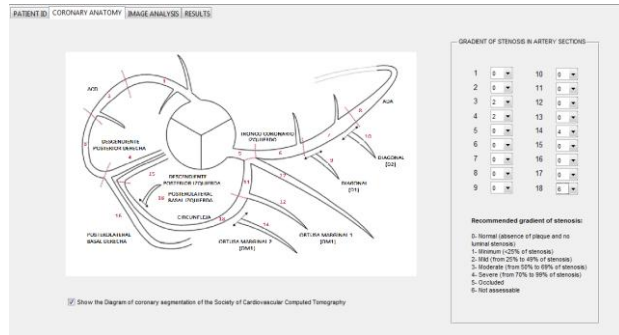


Figure 1. Images of short axis view at rest (a,c,e) and at stress (b,d,f). Images a) and b) correspond to the basal section, images c) and d) to the mid-cavity and the images e) and f) to the apical section.

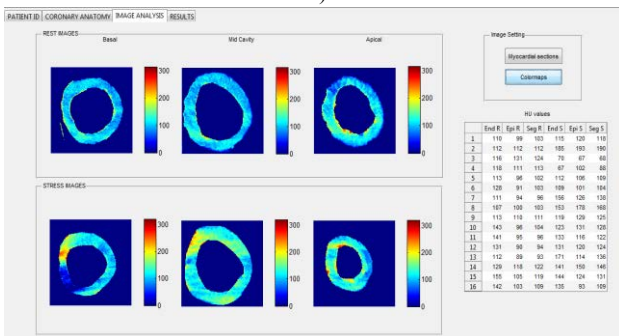
three points that will be used as reference to define myocardial segments in AHA-segmentation (Figure 3). Then, the tool allows selecting a method to do the left ventricle wall segmentation that is conducted through binary masks. There are three methods for the obtention of those masks, one that is automatic and two others that are manually.



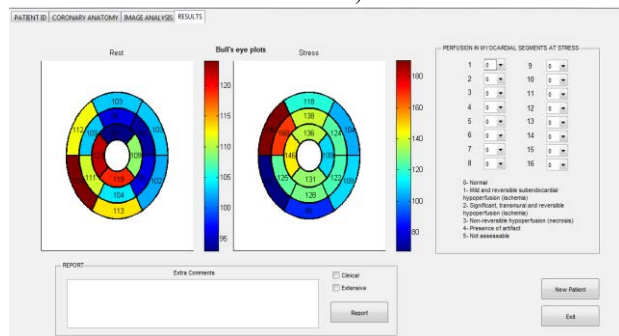
a)



b)



c)



d)

Figure 2. GUI PANELS. Image a) corresponds to the 'PATIENT ID' panel, where patient information and data are included, and left ventricle wall segmentation is performed. Image b) is the 'CORONARY ANATOMY' panel, where gradient of stenosis at coronary segments is detailed by the user. Image c) is the 'IMAGE ANALYSIS' panel, where AHA-segmentation, HU values and colormaps are shown. Image d) is the 'RESULTS' panel, where the user specifies the viability of myocardial segments, Bull's eye plots are shown and reports may be obtained.

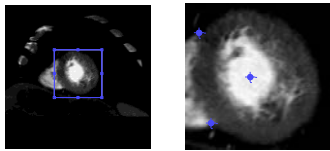


Figure 3. Image crop and point selection

By default, the segmentation is done using Region Growing, an algorithm which allows the acquisition of binary masks in an automatic and rapid way. In this process, the user should select two ‘seed points’, one inside of the lumen and another inside the left ventricle wall. Thus, two masks containing the internal and the external contour of the left ventricle wall are obtained. Then, the global mask of the left ventricle wall is computed from those masks. Since the contours of the segmented wall obtained directly by Region growing are not smooth, a morphological operator (opening operation) is applied (Figure 4).



Figure 4. Binary masks and the segmented left ventricle wall.

The previous method does not always provide suitable results, in particular with CT stress images where the contours of the left ventricle wall are not well-defined. For this reason, the GUI provides two other manual methods to perform the segmentation: ‘manual mode1’ and ‘manual mode2’. When the user chooses manual mode1, the contours are defined by delineating a line on the contour. When he/she selects manual mode2, different points on the contours are selected to extract the masks.

Papillary muscles and some muscular structures that project from the inner surface of the ventricle wall to the lumen are structures with similar colour than the ventricle wall. They are usually within the segmented left ventricle wall and should be removed (Figure 4). Furthermore, sometimes, regions which belong to the ventricle wall are excluded from it and appear as part of the background. For that reason, the clinical tool allows the exclusion and/or inclusion of some regions.

The second step is the implementation of the AHA-segmentation, which is performed automatically. This involves the obtention of 3 images for each AHA-segment: one with the entire segment, another one with the subendocardium and another one with the subepicardium.

First, the AHA-masks for the segmentation of each segment are obtained. The main procedures carried out to achieve this are: 1) Make a mesh for the mask and the cropped image, with the center in the middle of the lumen. 2) Transform the mesh from Cartesian coordinates system (x, y) to polar coordinate system (theta, rho) in order to facilitate the AHA-segmentation process. 3)

Create masks for each segment based on the reference points selected before (Figure 5).

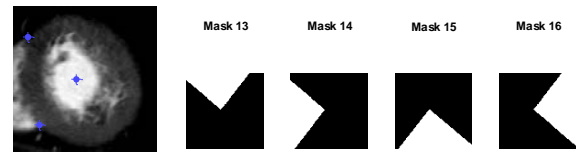


Figure 5. AHA-masks for the segmentation of apical segments

Once AHA-masks are obtained, each of them is multiplied by the global mask, in order to obtain the real masks corresponding to each segment (Figure 6).

The segmentation of the subendocardium and the subepicardium is performed in the same way but using the subendocardial and the subepicardial masks, respectively, instead of the global mask. These masks are created applying a morphological operator on the global mask to divide the left ventricle wall into two layers of the same width

Finally, perfusion measurements are calculated based on the mean of HU in the entire segments, in the subendocardium and in the subepicardium regions.

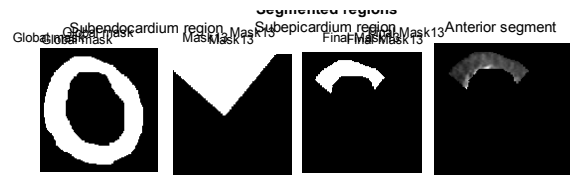


Figure 6. Anterior apical segmentation

3. Results

Data from 10 patients were used to evaluate the clinical tool. Data consisted on a contrast-enhanced Dual-Energy CT (DECT) image acquired under baseline, a contrast-enhanced DECT image obtained under hyperemia conditions and the results from a SPECT examination. These patients were clinically referred for IHD because of chest pain and other symptomatology related to IHD.

3.1. Validation of the clinical tool

The validation of this clinical tool was carried out by comparing perfusion values obtained automatically with perfusion values obtained manually using the AW VolumeShare5 workstation of General Electrics (GE) Company. Perfusion values were just determined from rest CT images; CT images at stress were excluded because they usually have artifacts.

Before calculating HU values, the six transversal sections in the short axis view were obtained by using the software package mentioned above. This software was also used for the manual quantification of perfusion. It was performed by placing circular ROIs (region of interest) in the corresponding segments of each section and obtaining the mean of HU in each segment. The size of the ROIS was determined according to the extension of each segment.

To assess the relationship between automatic and manual values, a linear regression analysis was applied. Figure 7, shows the regression results in a dispersion diagram of

automatic perfusion values (in the ordinate axis) versus manually perfusion values (in the abscissa axis); which also contains the regression line, the Pearson's coefficient and the determination coefficient. The Pearson's coefficient is equal to 0.94672 and the determination coefficient is equal 0.89628. This means that, approximately, 90% of the total variability in the automatic HU values can be explained by the linear relationship between manual HU values described with the regression equation.

So, there is a close and linear relationship between manual and automatic values.

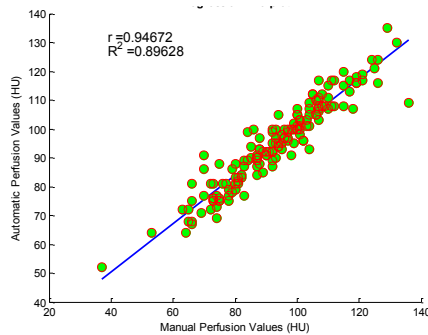


Figure 7. Regression line plot

3.2. Medical applicability of the clinical tool

After evaluating myocardial perfusion of 10 patients with the clinical tool, perfusion defects identified by CT/CTP protocol were compared to the ones determined from SPECT, which is one of the standard techniques to analyze perfusion. Segments containing artifacts were excluded from this analysis. At the end, 148 segments were included in this analysis. Table 1 shows the results comparison. Sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value were calculated to evaluate CT/CTP protocol based on SPECT.

	SPECT+	SPECT-
CT/CTP+	21	23
CT/CTP-	12	92

Table 1. Contingency table

On one hand, the sensitivity is equal to 0.64 which means that CT/CTP protocol detects 64% of segments with hypoperfusion while 36% of hypoperfused segments go undetected. Regarding to the specificity, it is equal to 0.80 which means that 80% of healthy segments are correctly reported as test negative (true negatives) but 20% of health segments are incorrectly identified as test positive (false positives). On the other hand PPV is 0.48 whereas NPV is 0.88. In other words, this means that given a myocardial segment reported as positive (with CT/CTP protocol) it has the 48% of probability of being hypoperfused, and given a segment reported as negative it has the 88% of probability of being healthy.

4. Conclusion and discussion

Quantification of myocardial perfusion is needed, daily, in the clinical practice to diagnose diseases associated

with hypoperfusion defects such as in IHD. The clinical tool presented in this work allows the direct and automatic quantification of myocardial perfusion in the left ventricle. Such a tool for the automatic regional analysis of hypoperfusion provides several advantages over the tedious and time-consuming manual approaches. First, the data acquisition process is faster and more accurate than the one performed with manual tools. Detection of perfusion defects with manual tools is based on the location of a ROI on the segments. Because of that, this manual procedure may lead to high variability and low accuracy. Quantification of myocardial perfusion strongly depends, in these cases, on the individual who is analyzing the segments and on the position of the ROI. Second, this clinical tool provides several approaches to identify perfusion defects; not only HU measurements in the entire segment, in the subendocardium and in the subepicardium, but also, with images of the short axis view displayed with a colormap to better identify and discriminate perfusion defects from artifacts. Some artifacts and very mild perfusion defects can be better determined with colormap images than with gray-scale images.

It is important to emphasize that, although this clinical tool is suitable for quantifying myocardial perfusion, the results obtained from the comparison of CT/CTP protocol with SPECT are not as good as expected. The validation of CT/CTP protocol should better assessed, including a higher number of patients, to better evaluate the clinical application of this tool for diagnosis of IHD.

Acknowledgments

I would like to express my gratitude to all the people involved in the Biomedical engineering bachelor's degree of the Universitat Pompeu Fabra. I also wish to acknowledge the people from the Cardiac Imaging Unit of Hospital Universitari Vall d'Hebrón, for giving me the opportunity of collaborating with them.

References

[1] S. Min, K. Jeong, H. Park, H. Kon, and M. G. Song, "Direct comparison of stress- and rest-dual energy computed tomography for detection of myocardial perfusion defect," vol. 30, pp. 41–53, 2014.

[2] R. T. George, V. C. Mehra, A. Saraste, and J. Knuuti, "Myocardial Perfusion by CT Versus Hybrid Imaging," *Cardiol. Clin.*, pp. 135–146, 2012.

[3] G. J. Pelgrim, M. Dorrius, X. Xie, M. A. M. den Dekker, U. J. Schoepf, T. Henzler, M. Oudkerk, and R. Vliegthart, "The dream of a one-stop-shop: Meta-analysis on myocardial perfusion CT," *Eur. J. Radiol.*, pp. 1–10, 2015.

[4] A. Varga-Szemes, F. G. Meinel, C. N. De Cecco, S. R. Fuller, R. R. Bayer, and U. J. Schoepf, "CT myocardial perfusion imaging," *AJR. Am. J. Roentgenol.*, vol. 204, no. 3, pp. 487–497, 2015.

[5] J. A. Rocha-Filho, R. Blankstein, L. D. Shturman, H. G. Bezerra, D. R. Okada, I. S. Rogers, B. Ghoshhajra, U. Hoffmann, G. Feuchtner, W. S. Mamuya, T. J. Brady, and R. C. Cury, "Incremental value of adenosine-induced stress myocardial perfusion imaging with dual-source CT at cardiac CT angiography," *Radiology*, vol. 254, no. 2, pp. 410–9, 2010.

Analysis And Quantification Of Cerebral Blood Flow As A Possible Biomarker In Early Alzheimer's Disease

Irene Goñi; Reyes García-Eulate; María A. Fernández Seara Álvaro Galiano; Marta Vidorreta; Mario Riverol; J. L. Zubieta

Tecnun Universidad de Navarra, Donostia, Spain; igonim@alumni.tecnun.es

Radiodiagnostic Department, Clínica Universidad de Navarra, Pamplona, Spain; mgeulate@unav.es, mfseara@unav.es

Abstract

For the past years, a deep research into possible biomarkers has taken place in order to detect Alzheimer's disease even before earliest symptoms arise. Cerebral Blood Flow (CBF) is among those, and its measurement can be performed by non-invasive Magnetic Resonance Imaging techniques. This practical work is framed into a bigger study which assesses diagnostic ability of CBF by Arterial Spin Labeling (ASL), and has used phase-contrast generated images to quantify CBF by measuring internal carotid (ICA) and vertebral arteries (VA) blood flow. Age, gender and diagnosis-related changes in CBF have been assessed with statistical methods. Therefore, this work aims to determine if CBF is a suitable parameter for discerning different diagnosis groups: twenty-nine control subjects and seventy-one case subjects including Alzheimer's disease (AD), mild cognitive impairment (MCI) and subjective memory loss (SML) have been studied.

1. Introduction

The study in which this work is developed aims to prove the efficacy of a new possible diagnostic technique for the early detection of AD. It is addressed to the group of patients that, even though they haven't been clinically diagnosed with AD, they present signs of memory loss, which are evident symptoms of an early stage of AD.

The study employs specific applications of magnetic resonance imaging: ASL, time-of-flight imaging and phase-contrast MRI. All of them will help quantify CBF of subjects. This technique is innocuous, non-invasive and can be obtained in a routine structural magnetic resonance test.

Images and relevant data of a wide range of human subjects were gathered. Images obtained through phase-contrast magnetic resonance needed a 'post-processing' and a further analysis with the aim of translating the qualitative value seen on them into a determined quantitative value of CBF. Once CBF from subjects had been quantified, it was compared depending of several criteria such as diagnosis, gender or age.

This practical work has consisted in processing and analyzing a group of images of phase-contrast magnetic resonance coming from subjects with AD, MCI, SML and control subjects. Once the images have been processed, they have been quantified to measure the blood flow to the brain, and a deeper statistical analysis has been carried out

to observe the relationship between CBF and other factors such as diagnosis, gender or age.

2. State of the art

It is known that CBF depends not only on pathophysiological phenomena, but also on neural activity. It has also been proven that it varies depending on age and gender [1]. Therefore, several imaging techniques for visualizing and quantifying blood's velocity and direction have been successfully developed using magnetic resonance equipment, a highly reliable technology in the diagnosis field [2]. However, very few studies have used phase-contrast MRI for quantifying vascular function.

Additionally, current diagnosis of AD is composed of several neuropsychological and neuroimaging assessments. The main issue is that they are based on features that appear late in the progression of the disease.

Vascular contribution to AD has induced CBF to be considered as a feasible biomarker that may break that chronological barrier and help detect Alzheimer at its earliest stages [3, 4, 5].

3. Anatomical and physiological considerations

To measure CBF, ICA and VA are of special interest: CBF was computed as the sum of the flowing blood along them. Some other considerations:

- There was no need of considering the velocity field of blood, as a blood flow mean value was calculated.
- It will be important for the artery to have a perpendicular flow to the 2D section in which image is being taken (namely image plane).
- Cerebral blood flow can vary up to a 100% in healthy subjects of same age and sex [1]. That is to say, we are facing very variable data.
- For subjects with arterial aplasia, blood flow of that specific artery will be considered as null. Therefore, it will also have to be added to the total CBF.

4. Methodology

4.1. Human subjects

Total number of subjects participating was 138, with ages between 42 and 84: 20 of them suffered from early AD;

22 of them had SML; 29 of them were diagnosed with MCI; 29 of them were control subjects; 24 of them were excluded from statistical analysis (excluding factors comprised buccal artefacts, depression, etc.); 14 of them were excluded from the whole study due to bad image quality, so neither CBF computation nor statistical analysis were performed. This finally lead to a total number of 100 subjects included in statistical analysis: 71 from case group and 29 from control group (45 man and 55 women).

4.2. Data gathering

The study took place at Clínica Universidad de Navarra during routine imaging studies with MRI equipment. On each image package delivered (corresponding to one subject), several images were of special relevance:

- Anatomical image: image in which anatomical situation of arteries is displayed.
- Phase image: image in which phase-contrast is visualized, so that blood’s direction and velocity are visible.
- Magnitude 3D Time-of-Flight image: image of cerebral arteries, which graphically differentiates blood from static tissue.
- Flux image: ‘synthetic’ image provided by Siemens which shows the vessels profile (it is a type of mask).

In the case of phase and flux images, four images are taken simultaneously, each one sensitive to different blood velocity ranges. This will generate four images from ICA and four images from VA, with the purpose of finding and selecting the images in which blood vessel area and the blood flow going through it are clearly and well visualized (lowest Signal-to-Noise Ratio). Velocity encoding ranges for ICA: ±25, ±35, ±45, and ±55 cm/s; for VA: ±15, ±20, ±25 and ±30 cm/s.

4.3. Image processing and CBF computation

Gathered images were converted from .DICOM format to .nii format with *dcm2nii* software.

ICA and VA were visually localized on anatomical images (Figure 1) and, if further information would be needed, on 3D Time-of-Flight images.



Figure 1. Anatomical image, patient c92.

Then, optimal image for flow calculation was selected. Brightest and most clearly defined vessel lumen was decisive for image selection. Too high blood velocities were discarded, as they were higher than the velocity encoding range (between 0 and 4065) thus looking black (Figure 2).

Masks were created to define vessel area (using *MRIcro* software or *Matlab* code). For that, ‘synthetic’ images provided by Siemens were filtered, most of them with a 254-255 filter.

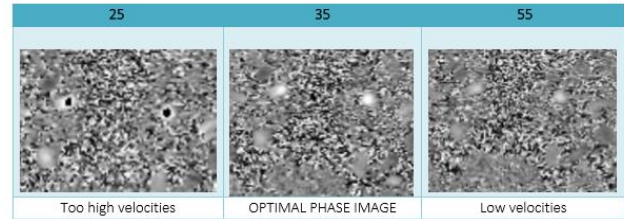


Figure 2. Optimal selection based on phase-contrast images.

One mask per vessel was created, which lead to four masks for all four arteries. Afterwards, this mask was overlaid to the image created through phase-contrast imaging, to compute blood flow in that vessel. Overlaying returned relevant data, such as vessel area (in pixels) and the blood velocity on each pixel.

With these data, CBF was be computed as follows:

$$\langle \text{Vessel flow} = \text{Vessel Area} * \text{Velocity} \rangle$$

$$\text{Vessel Area} = \text{Number of pixels} * \text{Pixel area} = n * 0,55^2$$

$$\text{Mean Velocity} = \frac{\sum \text{Velocity on each pixel}}{n}$$

$$\text{Velocity} \left(\frac{\text{cm}}{\text{s}} \right) = \frac{\text{Encoding Velocity} * \text{Mean Velocity}}{4096}$$

$$\text{Flow} \left(\frac{\text{ml}}{\text{s}} \right) = \frac{\text{Velocity} * \text{Vessel Area}}{100}$$

$$\text{Vessel flow} \left(\frac{\text{ml}}{\text{min}} \right) = \text{Flow} \left(\frac{\text{ml}}{\text{s}} \right) * 60$$

$$\text{CBF} = \sum \text{carotid flow} + \sum \text{vertebral flow}$$

This procedure could be performed either manually or semi-automatically (with Matlab software).

4.4. Statistical analysis

Statistical tools were applied to CBF values obtained from 100 subjects with R software. Input parameters were age, gender and diagnosis, while output parameter was CBF. Average values of different groups were computed (Table 1):

Mean value	Case	Control
CBF (ml/min)	528.0296	555.666
ICA flow (ml/min)	401.1853	426.18
VA flow (ml/min)	126.9124	128.91
Age	73.59	71.96

Table 1. Average values for case and control groups.

- Linear models were employed for testing age effect on CBF, age effect on VA flow and ICA flow, gender effect on CBF and gender effect on ICA flow and VA

flow. This was applied in the whole group as well as in men and women separately. It was also applied to case and control groups individually.

- Generalized linear models were employed for testing both age and gender effect on CBF, age and gender effect on ICA flow, age and gender effect on VA flow, and age and diagnosis effect on CBF.
- One-way Anova models were employed for testing diagnosis effect on CBF.
- After Anova, post-hoc pairwise comparisons were applied to test which diagnosis types significantly differ from each other.

5. Results

As also mentioned in external bibliography [6, 7], age appeared to be the most influencing factor in CBF evolution in the whole group of human subjects (Figure 3) with high statistical significance ($p=4.42 \times 10^{-6}$). When analyzed in both in men and women separately, they also showed a high correlation with age ($p_{\text{men}}=0.00122$, $p_{\text{women}}=0.000953$). However, this correlation was not visible when control subjects were analyzed individually, probably due to the low number of subjects.

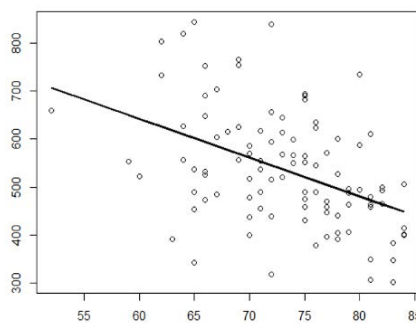


Figure 3. CBF (ml/min) vs. age, all participants, linear regression.

ICA and VA flow (Figure 4) showed statistical correlation with age when analyzed independently ($p_{\text{carotid}}=5.07 \times 10^{-5}$, $p_{\text{vertebral}}=0.00407$), showing that ICA flow was highly influencing.

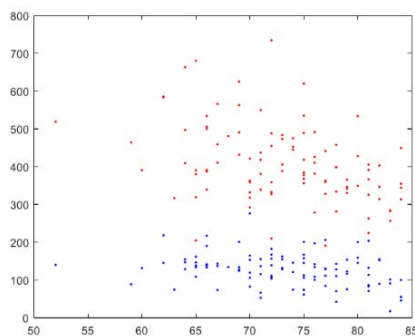


Figure 4. ICA (red) and VA (blue) flow in ml/min vs. age, all participants.

Gender effect on CBF was also assessed, not showing a significant correlation in the whole group. Gender effect was also analyzed in control subjects but again, did not show correlation, although most studies of healthy subjects have shown that CBF is slightly higher in women than in

men [8]. Furthermore, age was much more influencing than gender when these two factors were analyzed together ($p_{\text{age}}=4.47 \times 10^{-6}$, $p_{\text{gender}}=0.656$).

Moving on to diagnosis, statistically significant differences were observed in CBF depending on this factor (Figure 5): AD subjects had the lowest CBF. CBF in AD subjects (early AD) was 17.32% lower than control subjects, similar to other studies which show a 20% difference between mild to moderate AD and control subjects [9, 7, 10, 11]. CBF in MCI subjects was 8.83% lower than control subjects. SML group had the highest CBF, although it also had the highest dispersion (Figure 5). This suggested that SML subjects should be included in the control group, as they were clinically normal.

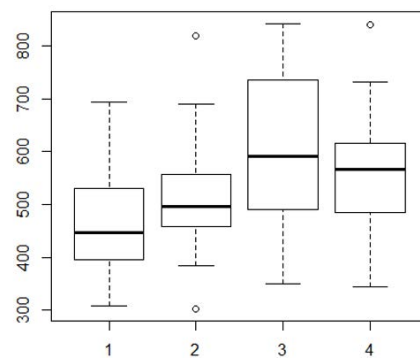


Figure 5. CBF (ml/min) in AD (1) MCI (2) SML (3) and control (4) groups.

When pairwise comparisons with Bonferroni correction were performed, groups which statistically differed were AD-SML ($p=6 \times 10^{-5}$), AD-control subjects ($p=0.0037$) and MCI-control ($p=0.0074$).

Regarding demographic analysis, AD group was the eldest group (mean=76 years), so age could also have had influenced on these results. To assess that fact, age and diagnosis were weighted together, both showing a very high effect on CBF ($p_{\text{age}}=3.76 \times 10^{-6}$, $p_{\text{diagnosis}}=0.000619$).

The three main factors (age, gender and diagnosis) were analyzed together and again, the ones showing highest correlation with CBF were age and diagnosis.

6. Conclusions

Considering the previous results, it can be affirmed that age and diagnosis are two highly influencing factors related to changes in CBF. Therefore, they may indicate a relationship between low brain blood flow and early Alzheimer dementia. Consequently, CBF could be used as a possible biomarker for early Alzheimer, included in current staging framework for Alzheimer pathology. Furthermore, imaging techniques with MRI such as ASL and phase-contrast could be very useful for that purpose, due to their beneficial characteristics: widely extended in diagnostic field, reliability, non-invasive, and short acquisition time (only 4 minutes).

This open door to a possible biomarker could also lead to the idea of introducing behavioral and cognitive interventions to delay or even prevent Alzheimer's disease symptoms. However, further investigation must be carried,

increasing the number of subjects. Future research objectives were proposed:

- Assessing whether CBF decrease in AD and MCI is due to ICA flow reduction or VA flow reduction.
- Assessing whether CBF decrease in AD and MCI is influenced by blood velocity reduction or vessel area reduction.
- Performing statistical analysis with 3 diagnosis groups (AD, MCI and SML+control) instead of 4.

Nevertheless, it can be said that we are one step closer to make early Alzheimer's disease effectively detected and treated.

Keywords

Alzheimer; Mild Cognitive Impairment; Cerebral Blood Flow; Phase-contrast MRI.

Aknowledgements

I would like to thank the neuroimaging group at CIMA and CUN, specially María Fernández Seara and Reyes García de Eulate, for teaching, helping and encouraging me to work in this beautiful field of bioengineering. And to my faculty, Tecnun, for providing me this exciting opportunity.

Bibliography

- [1] Laura M. Parkes, Waqar Rashid, Declan T. Chard and Paul S. Tofts. Normal cerebral perfusion measurements using arterial spin labeling: Reproducibility, stability, and age and gender effects. 2004. doi: 10.1002/mrm.20023
- [2] John A. Detre, Jiongjiang Wang, Ze Wang and Hengyi Rao. Arterial spin-labeled perfusion MRI in basic and clinical neuroscience. *Current Opinion Neurology*. 2009 Aug. 22(4):348-55. doi: 10.1097/WCO.0b013e32832d9505.
- [3] Binnewijzend MA., Benedictus MR., Kuijer JP., van der Flier WM., Teunissen CE., Prins ND., Wattjes MP., van Berckel BN., Scheltens P., Barkhof F. Cerebral perfusion in the predementia stages of Alzheimer's disease. *European Radiology*. 2016 Feb;26(2):506-14. doi: 10.1007/s00330-015-3834-9.
- [4] Wurtman R. Biomarkers in the diagnosis and management of Alzheimer's disease. *Metabolism*. 2015 Mar;64(3 Suppl 1):S47-50. doi: 10.1016/j.metabol.2014.10.034.
- [5] Yildirim T., Karakurum Göksel B., Demir Ş., Tokmak N., Tan M.. Evaluation of brain perfusion in Alzheimer disease with perfusion computed tomography and comparison to elderly patient without dementia. *Turkish Journal of Medicine and Science*. 2016 Apr 19;46(3):834-9. doi: 10.3906/sag-1411-77.
- [6] Andrew J. Martin, Karl J. Friston, James G. Colebatch, Richard S. J. Frackowiak. Decreases in Regional Cerebral Blood Flow with Normal Aging. *Cerebral Blood Flow Metabolism*. 1991 Jul. 11(4):684-9.
- [7] Beau M. Ances, Christine L. Liang, Oleg Leontiev, Joanna E. Perthen, Adam S. Fleisher, Amy E. Lansing, and Richard B. Buxton. Effects of Aging on Cerebral Blood Flow, Oxygen Metabolism, and Blood Oxygenation Level Dependent Responses to Visual Stimulation. *Human Brain Mapping*. 2009 Apr. 30(4): 1120–1132. doi: 10.1002/hbm.20574.
- [8] Otto M Henriksen, Christina Kruuse, Jes Olesen, Lars T Jensen, Henrik B W Larsson, Steffen Birk, Jakob M Hansen, Troels Wienecke, and Egill Rostrup. Sources of variability of resting cerebral blood flow in healthy subjects: a study using 133Xe SPECT measurements. *Cerebral Blood Flow Metabolism*. 2013 May. 33(5): 787–792.
- [9] Alex E Roher, Josef P Debbins, Michael Malek-Ahmadi, Kwei Chen, James G Pipe, Sharmeen Maze, Christine Belden, Chera L Maarouf, Pradeep Thiyyagura, Hua Mo, Jesse M Hunter, Tyler A Kokjohn, Douglas G Walker, Jane C Kruchowsky, Marek Belohlavek, Marwan N Sabbagh, and Thomas G Beach. Cerebral blood flow in Alzheimer's disease. *Vascular Health Risk Management*. 2012. 8: 599–611. doi: 10.2147/VHRM.S34874.
- [10] Binnewijzend MA, Benedictus MR, Kuijer JP, van der Flier WM, Teunissen CE, Prins ND, Wattjes MP, van Berckel BN, Scheltens P, Barkhof F. Cerebral perfusion in the predementia stages of Alzheimer's disease. *European Radiology*. 2016 Feb. 26(2):506-14. doi: 10.1007/s00330-015-3834-9.
- [11] Wierenga CE1, Hays CC2, Zlatar ZZ1. Cerebral blood flow measured by arterial spin labeling MRI as a preclinical marker of Alzheimer's disease. *Alzheimer's Disease*. 2014. 42 Suppl 4:S411-9. doi: 10.3233/JAD141467.

Espectrometría de impedancia eléctrica en tejido pulmonar

N. Coll Guich¹, R. Bragós Bardia¹, A. María Muñoz-Fernández², V. Pajares Ruiz², A. Torrego Fernández², P. J Riu Costa¹

¹ Departamento de Ingeniería Electrónica, Universitat Politècnica de Catalunya, Barcelona, España, pere.riu@upc.edu

² Servicio de Neumología, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España, vpajares@santpau.cat

Resumen

Las biopsias de pulmón son necesarias para el estudio de diversas enfermedades pulmonares. Este es un procedimiento agresivo y tiene la dificultad añadida de conocer la ubicación exacta de la toma de muestras. El método de detección de tejido mediante bioimpedancia eléctrica podría suponer un sistema guía más fiable dado que es capaz de identificar regiones con diferentes propiedades histológicas. Se evalúa la efectividad de este sistema obteniendo datos de impedancia en distintas localizaciones de pulmones en pacientes, mediante el procedimiento de broncoscopia. Por medio de un posterior procesado de señales se obtienen diferencias significativas entre distintos grupos de tejidos.

1. Introducción

Las enfermedades respiratorias tienen un impacto enorme en la salud por su alta prevalencia y mortalidad. De hecho según el informe de 2014 del Instituto Nacional de Estadística las enfermedades respiratorias fueron la tercera causa de muerte (11,7% del total de defunciones) a España, superada sólo por las enfermedades cardiovasculares (30,3%) y cánceres (27,5%) [1]. Las biopsias de pulmón son un procedimiento común para la detección de distintas enfermedades pulmonares. Este procedimiento es invasivo y se tiene que llevar a cabo en múltiples ocasiones aunque mediante pruebas previas funcionales o radiológicas se haya obtenido un diagnóstico claro. El sistema de diferenciación de tejido pulmonar mediante el procedimiento de broncoscopia daría una precisión en la localización de las mediciones y sería un método in vivo, in situ y mínimamente invasivo.

El método consiste en medir las propiedades eléctricas pasivas de los materiales biológicos, una técnica con alta sensibilidad, ya que responde a pequeños cambios, en el caso del pulmón, la perfusión sanguínea y la respiración; pero con baja especificidad, dado que hay distintas causas que pueden provocar un mismo efecto. La impedancia depende de la composición y estructura del material, por consiguiente puede aportar información del tejido biológico formado por células. Los medios intra y extracelulares son conductores, puesto que contienen iones de potasio sodio y cloro disueltos. Por otra parte, la membrana plasmática está formada por fosfolípidos y solo permite el paso selectivo de iones, es pues muy aislante y se comporta como un condensador. A causa de este comportamiento, la impedancia varía dependiendo de la frecuencia de la corriente aplicada. En la Figura 1 se

observa la afectación del recorrido de la corriente dependiendo de la frecuencia aplicada. Las corrientes de baja frecuencia fluyen sólo por el líquido extracelular a causa de la dificultad de atravesar la membrana plasmática y se obtienen valores altos de impedancia. Las corrientes de alta frecuencia son capaces de atravesar la membrana por lo que su valor de impedancia es más bajo.

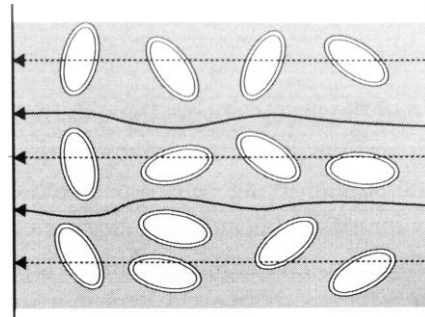


Figura 1. Recorridos de alta (línea) y baja (puntos) frecuencia

2. Método

Las medidas se han realizado en el Departamento de Neumología del Hospital Sant Pau de Barcelona durante el procedimiento de broncoscopia común. Se han hecho 60 mediciones en 14 pacientes en pulmones sanos, con enfisema, fibrosis o sospecha de neoplasia. Todas las pruebas se realizaron con el consentimiento informado del paciente y ninguna de ellas se ha podido relacionar directamente con algún efecto secundario.

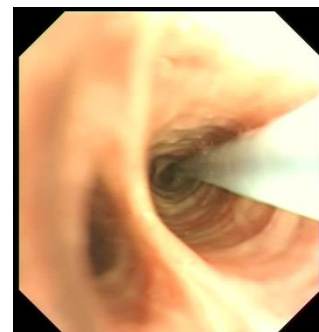


Figura 2. Visión interior del broncoscopio, a la derecha el catéter

Se utiliza el conducto existente del broncoscopio como punto de acceso para la introducción en las vías

respiratorias del catéter esterilizado para las mediciones (figura 2). Se inyecta una corriente al paciente y se obtiene una diferencia de tensión y corriente a 26 frecuencias escogidas previamente.

2.1. Materiales

Para la adquisición de mediciones se utiliza un sistema desarrollado en el departamento de electrónica de la UPC, en anteriores proyectos de investigación.

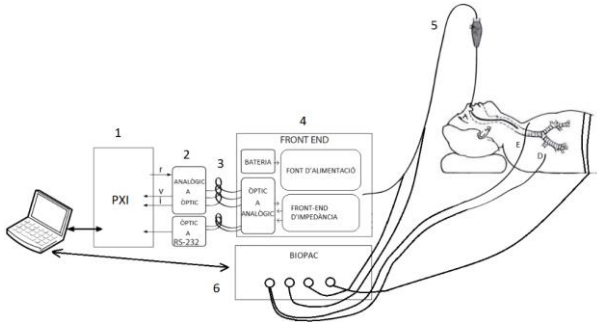


Figura 3. Sistema para la adquisición de datos

El sistema que se utiliza para la medición, consiste en un generador de forma de onda arbitraria para generar una señal de banda ancha con 26 frecuencias, entre 1 kHz y 1 MHz, y un digitalizador de alta resolución, montados en un rack PXI. Se obtiene una señal de corriente y tensión que se digitaliza para ser leída por el PC y convertida en impedancia. Se utiliza una unidad de aislamiento mediante un sistema óptico analógico diseñado para que limite la corriente auxiliar de paciente acorde con la norma EN 60601-1 de seguridad eléctrica para equipamiento médico. A parte se monitorizan las constantes fisiológicas del paciente con el equipo comercial Biopac y de manera sincronizada. Se adquieren datos de ECG, ventilación y temperatura interna para una posterior correlación con los datos de impedancia. En la figura 3, se esquematiza el sistema de adquisición de datos y en la figura 4 se muestra una fotografía del montaje real.



Figura 4. Montaje detallado. De arriba abajo: Front-end para el aislamiento del paciente, Biopac y PXI

Se utiliza un catéter de ablación direccional de 4 electrodos, 2 para la inyección de corriente y otros 2 para la detección de caída de tensión. Se hacen mediciones de 15s de duración con 60 espectros por segundo de velocidad de adquisición.

2.2. Procesamiento de datos

Se ha creado un programa con el software Matlab para el almacenamiento y clasificación automática de las mediciones por paciente y tipo de patología. Se estudian los datos espectrales y también temporales a frecuencias escogidas. En primer lugar se escogen 12 segundos de los 15 de adquisición para su estudio. Se calculan y se representan los espectros máximos, mínimos y medios a lo largo de este tiempo para evaluar la modulación debida a los parámetros fisiológicos. En la figura 5 se muestra un espectro típico de un paciente sano.

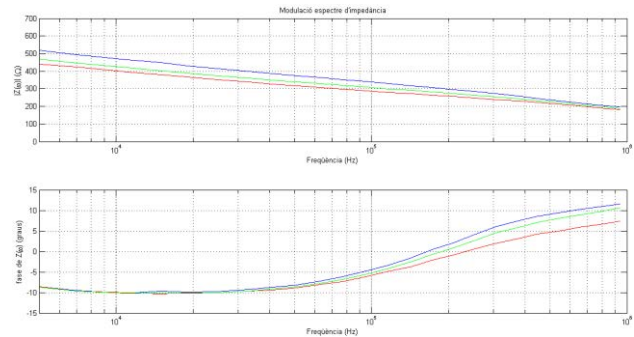


Figura 5. Espectro de una medida. En azul el espectro máximo, en rojo el espectro mínimo y en verde el espectro medio

En un segundo módulo de procesamiento se crean estadísticas de todos los conjuntos de datos clasificados por localización y patologías, para la definición de estimadores y su representación. Se han creado 3 conjuntos de datos: pulmón sano (verde), pulmón patológico (rojo) y pared bronquial (azul). La figura 6 es un ejemplo de la representación automática por conjunto de datos, en este caso se diferencian el pulmón sano del bronquio.

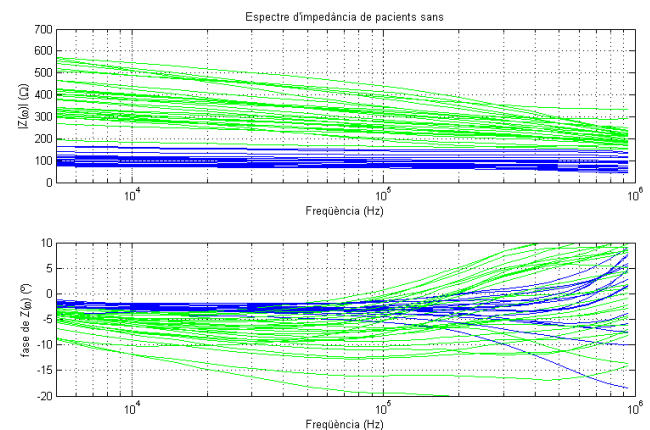


Figura 6. Representación de todas las medidas de pulmón sano (verde) y bronquio (azul)

En un tercer programa se hace el estudio temporal por cada una de las mediciones, muestreándolas y correlacionándolas con sus datos fisiológicos.

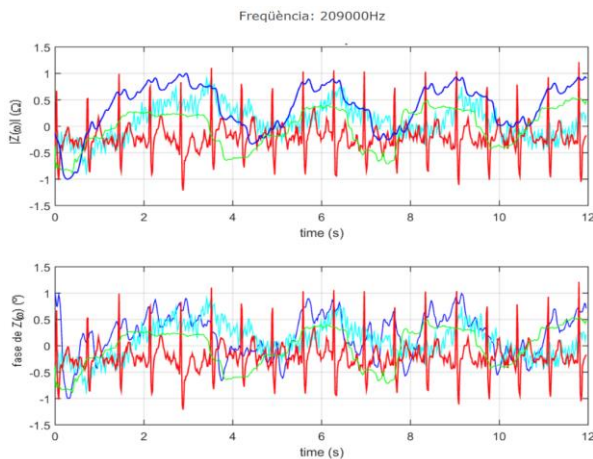


Figura 7. Estudio temporal, se representa la impedancia (azul), ventilación (verde), temperatura interior (cian) y ECG (rojo)

La figura 7 es un ejemplo del estudio temporal de una medida y la correlación con las constantes fisiológicas del paciente. La impedancia está modulada por la ventilación, a causa del carácter aislante del aire, y también por la perfusión. Además, la temperatura interior modula con la ventilación, aunque ésta se ve mínimamente desfasada a causa de que su punto máximo se encuentra en el momento de máxima expiración.

Finalmente, hay un último filtraje de las mediciones de impedancia para evaluar realmente la afectación de la ventilación y la perfusión en cada perfil de medida. Se utiliza un filtro bidireccional Butterworth y se consiguen separar las modulaciones causadas por las constantes fisiológicas.

3. Resultados

En el estudio espectral se distinguen los 3 conjuntos de mediciones: pulmón sano, pulmón patológico y tejido bronquial. Se escogen las frecuencias 11kHz en módulo y 33kHz en fase para el estudio estadístico mediante un diagrama de cajas (Figura 8). En módulo se diferencia el pulmón sano de los otros dos grupos ya que éste consta de valores de impedancia mucho más altos ($367,54\Omega \pm 90,34\Omega$), las regiones de tejido patológico ($150,61 \Omega \pm 46,64 \Omega$) obtienen valores menores y se aproximan más al comportamiento del bronquio ($101,47 \Omega \pm 29,32 \Omega$). En cambio, en la fase se distingue el conjunto de tejido bronquial ($-2,91^\circ \pm 0,69^\circ$) por su bajo valor de ángulo respecto al tejido pulmonar sano ($-7,13^\circ \pm 3,11^\circ$) y patológico ($-7,59 \pm 1,85$).

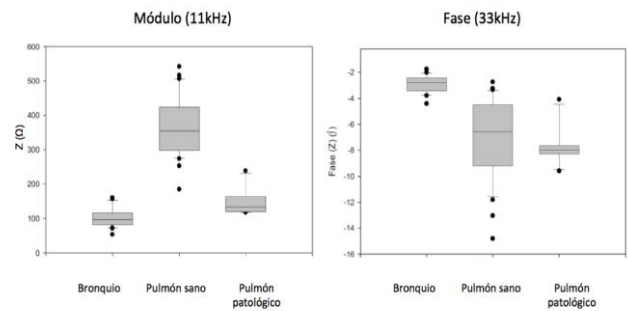


Figura 8. Diagrama de cajas de todas las mediciones clasificadas en 3 grupos

El nivel de significancia entre grupos (P) compara dos conjuntos de datos e indica si son diferentes significadamente. En la tabla 1 se muestran los valores P para las comparaciones entre grupos tanto en módulo como en fase.

	Módulo (11kHz)	Fase (33kHz)
Tejido pulmonar sano		
Bronquio	<0,001	<0,001
Tejido pulmonar sano		
Tejido pulmonar patológico	<0,001	0,734
Bronquio		
Tejido pulmonar patológico	0,006	<0,001

Tabla 1. Valor P (nivel de significancia entre grupos)

Mediante el estudio temporal y el filtraje se ha comprobado que la impedancia se ve afectada por la modulación de ventilación tan en módulo como en fase, a causa del aumento de aire al pulmón. Cuanto más aire tiene el pulmón, mayor valor de impedancia se obtiene.

También se ha corroborado que la impedancia se encuentra en un valle en el momento de más perfusión sanguínea debido al aumento de conductividad que aporta la sangre. Este momento coincide con la onda T del electrocardiograma que corresponde a la fase de relajación isovolumétrica, es decir, la repolarización de los ventrículos, justo después de la eyección del ventrículo derecho hacia al pulmón (onda S). En la figura 9 se representa el detalle de la correlación de la modulación de la impedancia (sin valor medio). En línea azul discontinua se representa la medida de impedancia sin filtrar, en azul continua la medida de impedancia filtrada y en rojo el ECG.

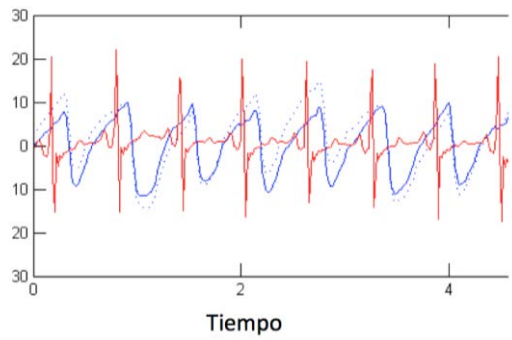


Figura 9. Modulación de la impedancia (puntos azules), modulación impedancia filtrada (línea azul), ECG (rojo)

Finalmente, comparando las fluctuaciones (amplitud de pico a pico) de la impedancia entre los 3 conjuntos de mediciones se concluye que los pulmones sanos muestran una intensa modulación debido a las constantes fisiológicas estudiadas, tanto en módulo como en fase. Además en las frecuencias bajas, donde más alta es la impedancia se encuentra mayor fluctuación.

Los pulmones patológicos, en cambio, obtienen valores muy bajos de amplitud. Tanto la fibrosis como el enfisema, aunque por causas distintas, se caracterizan por tener zonas de tejidos con poco acceso al aire. Este hecho provoca una disminución de la perfusión sanguínea en esta localización causada por la autorregulación del sistema circulatorio, que distribuye la sangre por las zonas más ventiladas. Las mediciones en la pared bronquial muestran valores

significativamente más bajos o casi inexistentes de fluctuación.

4. Conclusiones

La espectrometría de impedancia eléctrica utilizada para la distinción de tejido pulmonar durante la broncoscopia es una técnica segura, mínimamente invasiva y no destructiva, con posibilidad de diagnóstico in vivo y in situ. Aunque es un método en situación de desarrollo, ha comprobado ser un método capaz de distinguir tejidos pulmonares con distintas características. Puede llegar a ser un sistema guía para los neumólogos en el proceso de broncoscopias, proporcionar más seguridad de decisión en las biopsias, hasta reducir el número de muestras por estudio histológico y así el impacto de la prueba diagnóstica.

Sin embargo, se necesitan mayor número de mediciones para obtener una exactitud idónea del sistema. Se necesita continuar la investigación para la obtención de estimadores óptimos y válidos estadísticamente.

Referencias

- [1] Instituto Nacional de estadística “Estadística I.N. 2014”. 2014.
<http://www.ine.es>

Computational estimation of the gain image of Direct Electron Detectors

E. Fernández Giménez¹, V. Peredo Robinson¹, C.O.S. Sorzano^{1,2}, J. Vargas², J. Otón², J.L. Vilas², J.M. de la Rosa-Trevín², R. Melero², J. Gómez-Blanco², J. Cuenca², L. del Cano², P. Conesa², R. Marabini³, J.M. Carazo²

¹Univ. San Pablo - CEU, Campus Urb. Montepríncipe, 28668 Boadilla del Monte, Madrid, Spain

²Centro Nac. Biotecnología (CSIC), c/Darwin, 3, 28049 Cantoblanco, Madrid, Spain

³Univ. Autónoma de Madrid, 28049 Cantoblanco, Madrid, Spain

Abstract

The introduction of Direct Electron Detectors (DED) in the Electron Microscope field has boosted Single Particle Analysis to a point in which it is currently considered to be a key player technique in Structural Biology. In this article we address the issues of increasing the quality of current DED images as well as their ease of use. In this way, we introduce an algorithm to estimate the camera gain at each pixel from the movies themselves, so that the recorded movies can be compensated for differences amongst the detection capability of the camera sensors. This compensation is needed to set the recorded frames in a coherent gray level range, homogeneous over the whole image. The algorithm does not need any other input than the DED movie itself and it is able of estimating the camera gain image, identifying dead pixels and incorrectly calibrated cameras. We show the results for the three current DED camera models (DE, Falcon and K2).

1. Introduction

Direct Electron Detectors (DEDs) have revolutionized the way images are acquired and processed in Electron Microscopy [4]. They have given access to unprecedented quality images, allowing high resolution 3D reconstructions of conformational stable macromolecules. As any other image acquisition device, particularly electronic ones, DEDs have non-negligible differences between the gain of the different sensor areas which need to be corrected to produce a reliable image in which all the readouts are set in the same numerical framework. This effect is normally corrected by measuring a “gain” image (G) that relates the ideal image and the actually recorded one

$$I_{\text{recorded}} = I_{\text{ideal}}G \quad (1)$$

Ideally, the gain image should be a constant image equal to 1. In practice, it may take values significantly different from 1. Many cameras are calibrated and internally perform the correction before writing the recorded images. However, these can also be set to produce the raw data, while performing an external compensation by explicitly measuring the gain image (another image without specimen is recorded).

To the best of our knowledge, the only article that addresses a similar problem is that of Afanasyev et al. [1]. In their work, they assimilate the gain of the camera to the standard deviation of each one of the pixels, and they prove this is a successful way of identifying dead pixels. In this work, and as we show below, our proposed correction goes beyond this task and approximates well the gain image itself, that would otherwise be measured by the device.

In this article we present a new image processing algorithm that allows estimating the gain image directly from a recorded movie, avoiding thus the need to perform an extra measurement for the gain image. This may be used just for convenience, or as a way to validate the internal camera calibration. The algorithm is iterative starting with a flat gain image which is iteratively refined.

2. Algorithm

The need to estimate the gain image from an image itself is also shared by other imaging techniques, like infrared imaging [5]. The idea is based on the local smoothness of the histograms of rows and columns. Let us first introduce the Smooth Midway Equalization (SME) operator [5]. Let us denote as $I_{\text{ideal},i}^{(n)}$ the estimate at iteration n of the ideal image corresponding to the i -th frame of a DED movie. For each column c of this ideal image, we calculate the cumulative density function of $I_{\text{ideal},i}^{(n)}$, which will be denoted as $H_{\text{ideal},i,c}^{\text{col},(n)}$. The inverse of this function is denoted as $\left(H_{\text{ideal},i,c}^{\text{col},(n)}\right)^{-1}$

Then, the inverse midway σ -smoothed histogram of that frame is calculated as

$$\left(\tilde{H}_{\text{ideal},\sigma,i}^{\text{col},(n)}\right)^{-1} = \frac{1}{C} \sum_{c=0}^{C-1} \frac{\sum_{k=-K}^K g_{\sigma,k} \left(H_{\text{ideal},i,c+k}^{\text{col},(n)}\right)^{-1}}{\sum_{k=-K}^K g_{\sigma,k}} \quad (2)$$

where C is the number of columns of the frame, $g_{\sigma,k} = \exp(-0.5k^2/\sigma^2)$ is a Gaussian weight, and $K = \lceil 3\sigma \rceil$ represents the effective extent of the Gaussian in the spatial domain.

The column σ -equalized frame is defined as

(3)

$$\tilde{I}_{ideal,\sigma,i}^{col,(n)} = \left(\tilde{H}_{ideal,\sigma,i}^{col,(n)} \right)^{-1} \circ H_{ideal,i,c}^{col,(n)} \circ I_{ideal,i}^{(n)}$$

where \circ denotes function composition. The column SME operator applied to the image $I_{ideal,i}^{(n)}$ is defined as

$$SME^{col} \left\{ I_{ideal,i}^{(n)} \right\} = \tilde{I}_{ideal,\sigma_{TV},i}^{col,(n)} \quad (4)$$

where

$$\sigma_{TV} = \arg \min_{\sigma} TV^{col}(\tilde{I}_{ideal,\sigma,i}^{col,(n)}), \quad TV^{col}(I) = \sum_{r=0}^{R-1} \sum_{c=1}^{C-1} |I(r,c) - I(r,c-1)|$$

is the total variation by columns of the image I and R is the number of rows in the frame; in other words, for each frame we look for the σ value that minimizes the total variance of the output image. The SME operator is defined as

(5)

$$SME \left\{ I_{ideal,i}^{(n)} \right\} = \frac{1}{2} \left(SME^{col} \left\{ I_{ideal,i}^{(n)} \right\} + SME^{row} \left\{ I_{ideal,i}^{(n)} \right\} \right)$$

where SME^{row} is the row SME operator (defined analogously to the column SME operator).

Note that Eq. 1 holds for each frame, but the gain image is the same for all of them. Adding the equations for every frame and solving for G , we arrive to the iterative step

(6)

$$G^{(n+1)} = \frac{\sum_{i=0}^{N-1} I_{recorded,i}}{\sum_{i=0}^{N-1} SME \left\{ I_{ideal,i}^{(n)} \right\}}$$

being N the total number of frames and n the current iteration. The estimate of the ideal i -th frame is then updated with $I_{ideal,i}^{(n+1)} = \frac{I_{recorded,i}}{G^{(n+1)}}$ (in the first iteration $G^{(1)} = 1$). This recursive algorithm can be executed till convergence.

3. Results and discussion

We have applied this algorithm to estimate the camera gain of the movies corresponding to the EMPIAR entries 10010 (DE12 camera), 10025 (K2), 10026 (Falcon II), 10013 (K2) and FEI Falcon 3EC electron counting mode data (kindly provided by FEI, see Fig. 1). Table 1 shows the minimum and maximum gain as well as the gain standard deviation (the mean gain is 1.0). As can be seen from Fig. 1 the proposed method was capable of recovering the underlying camera gain pixel values for the 10010 dataset, while the algorithm of Afanasyev et al. [1] essentially results in a noise image. In many microscopes the camera gain image is normally

experimentally determined once and used for all the movies acquired during a microscope session. The algorithm proposed in this paper may serve as a verification of the validity of the experimental gain image for the whole dataset.

Dataset	Min.Gain	Max.Gain	Std.Dev.
10010 (DE12)	0.832	4.817	0.0501
10025 (K2)	0.857	2.317	0.0052
10026 (Falcon II)	0.973	1.025	0.0019
10013 (K2)	0.349	29.977	0.4213
Falcon 3EC	0.829	2.082	0.0138

Table 1. Minimum, maximum and standard deviation for the gains found for each of the datasets. The mean of the gain is set to 1.

The estimated gain, as well as its large standard deviation, can be used either to detect incorrectly compensated gain images or to avoid the time associated to a hardware acquisition of the gain image (which in some labs is performed every day). With K2, Falcon II and 3EC cameras, the gain compensation is automatically performed by the camera itself. However, as is the case of the 10013 dataset, the gain image used for the compensation may not be the one applicable for the dataset at hand (the gain image needs a recalibration). The proposed algorithm may serve as a tool to check for the correct calibration of the camera. Ideally, a well compensated image should result in a gain image whose standard deviation is close to 0.

Finally, it is interesting to visually recover the different spatial configurations of the electronic underlying the camera construction (see the different patterns exhibited by the three different cameras in Fig. 1). It must be noted that the gain image may depend on the microscope voltage (actually, the energy of the electrons) and may vary with time, so that a single calibration at the beginning of the camera life may not be enough for its proper correction.

This algorithm is publicly available in Xmipp (xmipp movie estimate gain, de la Rosa-Trevín et al. [2]) and Scipion (estimate gain protocol, de la Rosa-Trevín et al.[3]).

Acknowledgements

We thank FEI for supplying the Falcon 3EC datasets. The authors would like to acknowledge economical support from: the Comunidad de Madrid through grant CAM(S2010/BMD-2305), the NSF through Grant 1114901, the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness through Grants AIC-A-2011-0638, BIO2010-16566, BIO2013-44647-R, Instituto de Salud Carlos III, PT13/0001/0009, the Fundación General CSIC

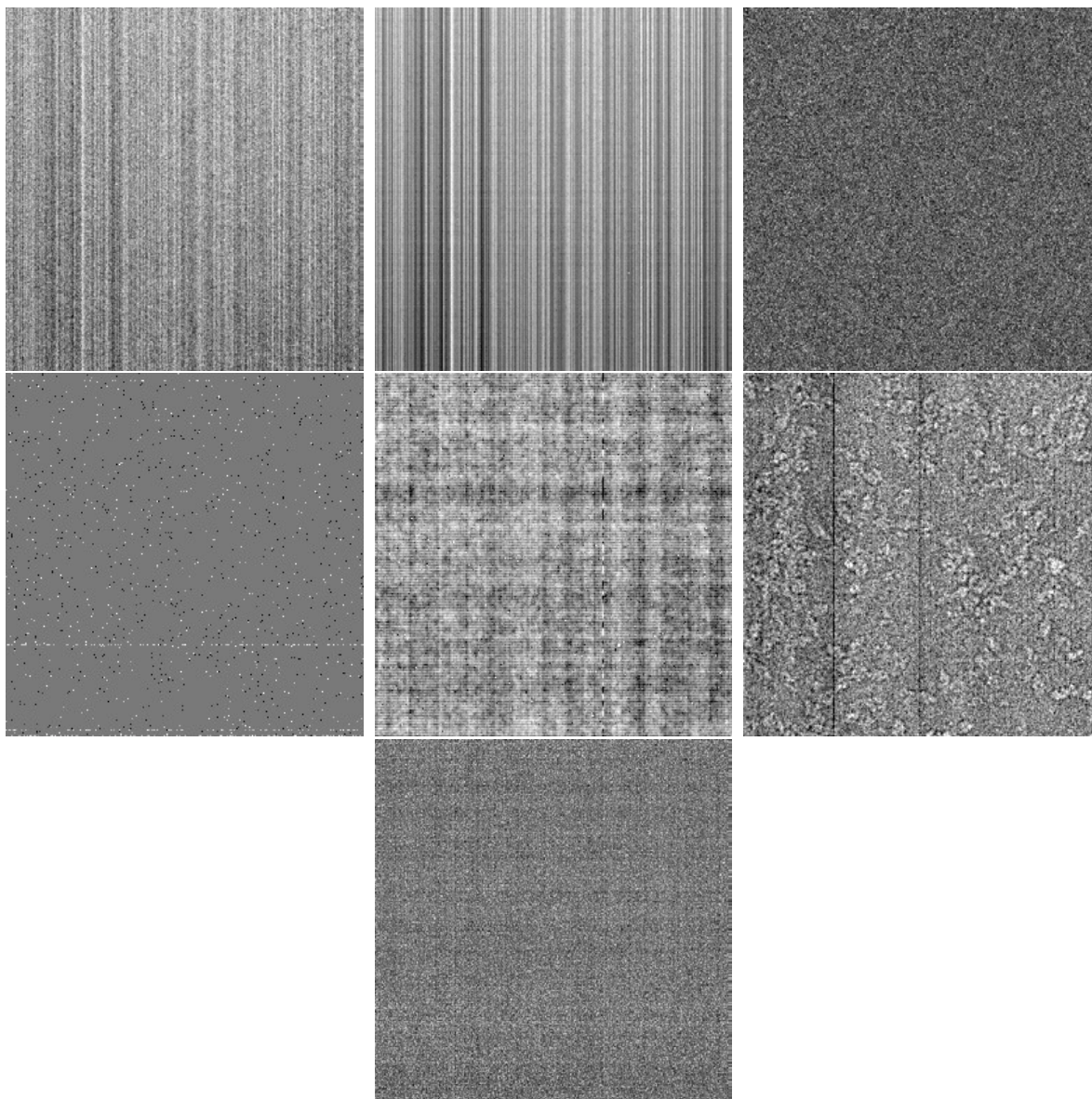


Figure 1. Top row: Gain camera images experimentally determined for 10010 (DE12, left) estimated by the proposed algorithm (middle), and estimated by the algorithm of Afanasyev et al. [1] (right). Middle row: Gain camera images estimated by the proposed algorithm for 10025 (K2, left), 10026 (Falcon II, middle), and 10013 (K2, right, zoomed out so that particles fit in the image shown). Bottom row: Gain camera images estimated by the proposed algorithm for FEI Falcon 3EC, electron counting mode data. The dynamic range of each gain image has been independently stretched for visualization purposes. The minimum and maximum values of each image can be seen at Table 1.

(Programa ComFuturo). This work was funded by Instruct, part of the European Strategy Forum on Research Infrastructures (ESFRI) and supported by national member subscriptions.

References

[1] Afanasyev, P., Ravelli, R. B. G., Matadeen, R., De Carlo, S., van Duinen, G., Alewijnse, B., Peters, P. J., Abrahams, J.-P., Portugal, R. V., Schatz, M., van Heel, M., 2015. A posteriori correction of camera characteristics from large image data sets. *Sci Rep* 5, 10317.

[2] de la Rosa-Trevín, J. M., Otón, J., Marabini, R., Zaldívar, A., Vargas, J., Carazo, J. M., Sorzano, C. O. S., Nov 2013. Xmipp 3.0: an improved software suite for image processing in electron microscopy. *J. Structural Biology*

184 (2), 321–328.

[3] de la Rosa-Trevín, J. M., Quintana, A., Del Cano, L., Zaldívar, A., Foche, I., Gutiérrez, J., Gómez-Blanco, J., Burguet-Castell, J., Cuenca-Alba, J., Abrishami, V., Vargas, J., Otón, J., Sharov, G., Vilas, J. L., Navas, J., Conesa, P., Kazemi, M., Marabini, R., Sorzano, C. O. S., Carazo, J. M., Apr 2016. Scipion: A software framework toward integration, reproducibility and validation in 3d electron microscopy. *J Struct Biol*.

[4] Kühlbrandt, W., 2014. The resolution revolution. *Science* 343 (6178), 1443–1444.

[5] Tendero, Y., Landeau, S., Gilles, J., 2012. Non-uniformity correction of infrared images by midway equalization. *Image Processing On Line* 2, 134–146.

Local analysis of strains and rotations for macromolecular electron microscopy maps

A. Martín-Ramos¹, F. Prieto¹, R. Melero², J. Martín-Benito², S. Jonic³,
J. Navas-Calvente², J. Vargas², J. Otón², V. Abrishami², J.M. de la Rosa-Trevín², J. Gómez-Blanco², J.L. Vilas², R. Marabini⁴, J.M. Carazo², C.O.S. Sorzano^{1,2}

¹ Escuela Politécnica, Universidad San Pablo-CEU, Madrid, España

² Centro Nacional de Biotecnología, CSIC, Madrid, España

³UPMC University Paris, Paris, Francia

⁴Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España

Abstract

Macromolecular complexes can be considered as molecular nano-machines that must have mobile parts in order to perform their physiological functions. The reordering of their parts is essential to execute their task. These rearrangements induce local strains and rotations which, after analyzing them, may provide relevant information about how the proteins perform their function.

In this project these deformations of the macromolecular complexes are characterized, translating into a “mathematical language” the conformational changes of the complexes when they perform their function. Electron Microscopy (EM) volumes are analyzed using a method that uses B-splines as its basis functions. It is shown that the results obtained are consistent with the conformational changes described in their corresponding reference publications.

1. Introduction

Movement can be described as a change in position or deformation. Initially we had a complex macromolecule with a determined spatial arrangement and, after moving, it has changed its spatial disposition.

The movements at the local areas of the biological molecules can be further classified as stretching, compressions and rotations. These mechanical efforts respect to its surroundings lead to conformational changes at certain areas of the biological macromolecules while they perform defined biological functions. Furthermore, several conformations may be adopted as a consequence of the high flexibility of biological macromolecules.

Given two conformational states of the macromolecule there is no approach available to analyze the differences between the volumes. Previous to the development of our analyzing method, we used Chimera on the volumes and by performing a morphing we could get a rough idea of the areas of the proteins that were moving. However, it is not possible to know whether a region is rotating, compressing or stretching.

In this paper we introduce the first computational tool in which the two kinds of movements can be separated:

rotations and strains (stretching and compression). Additionally, it is possible to handle a wide variety of resolutions using this method presented. The deformation fields between the two conformational states are calculated with an elastic registration algorithm. Elastic registration [1] is very useful for this experiment simply because it allows each part of the image to move independently, although to make the deformation field smoother some regularization may be imposed. A rigid registration (where only global rotations and translations are allowed) would not suit to solve this issue.

The deformation field, $\mathbf{g}(\mathbf{r})$, constructed by a linear combination of B-splines, allow us to express non-rigid transformations as shown in *Figure 1*.

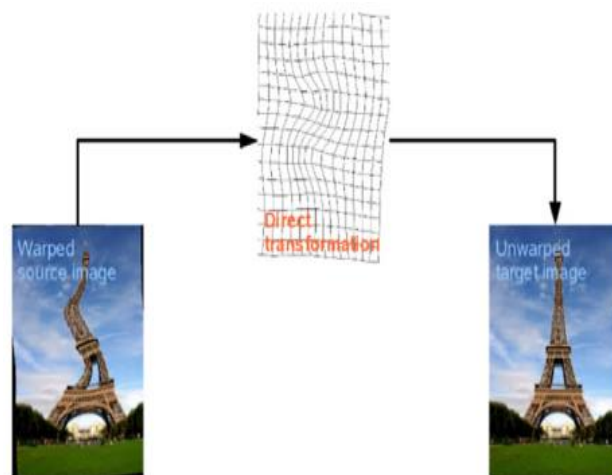


Figure 1. Example of non-rigid transformation

The differential analysis of the local properties of the geometrical transformation allows distinguishing between local rotations and local strains (compression and stretching). We show in three different experimental cases that our method provides results consistent with the previous observations on these macromolecules.

2. Materials and methods

As mentioned above, the movement of the local areas of the macromolecules can be interpreted as a deformation in the space. To be able to calculate this deformation we need to find the deformation field $\mathbf{g}(\mathbf{r})$ so that evaluating the first EM macromolecule (before performing its biological function) in $\mathbf{g}(\mathbf{r})$ has to be almost the same as the second EM macromolecule (the same macromolecule, but being already moved). So that in the case that the macromolecule does not suffer a deformation, if we apply the identity function I as $\mathbf{g}(\mathbf{r})$ for the first macromolecule we will get the second one (which will be exactly the same one with the same spatial disposition).

In this section the methodology for the local analysis of structural rotations and strains is described. The input to the method is a pair of EM maps (the two EM volumes) describing two different, although similar, states of a given macromolecule. These maps are defined as $V_0(\mathbf{r})$ and $V_F(\mathbf{r})$, standing for the initial and final state. ($\mathbf{r} = (x, y, z)^T \in \mathbb{R}^3$ is the spatial location at which the maps are evaluated).

Straightaway we search for a continuous deformation field, $\mathbf{g}(\mathbf{r}) = (g_x(\mathbf{r}), g_y(\mathbf{r}), g_z(\mathbf{r}))^T \in \mathbb{R}^3$ that transforms coordinates from the final to the initial state such that

$$V_F(\mathbf{r}) \approx V_0(\mathbf{g}(\mathbf{r}))$$

If the initial and the final state were identical, $\mathbf{g}(\mathbf{r})$ would be the identity transformation ($\mathbf{g}(\mathbf{r}) = \mathbf{r}$). We define the displacement vector field as $\mathbf{u}(\mathbf{r}) = \mathbf{g}(\mathbf{r}) - \mathbf{r}$ and at each point we can calculate the displacement gradient as

$$\mathbf{U}(\mathbf{r}) = \nabla \mathbf{u}(\mathbf{r}) = \begin{pmatrix} \frac{\partial g_x}{\partial x}(\mathbf{r}) - 1 & \frac{\partial g_x}{\partial y}(\mathbf{r}) & \frac{\partial g_x}{\partial z}(\mathbf{r}) \\ \frac{\partial g_y}{\partial x}(\mathbf{r}) & \frac{\partial g_y}{\partial y}(\mathbf{r}) - 1 & \frac{\partial g_y}{\partial z}(\mathbf{r}) \\ \frac{\partial g_z}{\partial x}(\mathbf{r}) & \frac{\partial g_z}{\partial y}(\mathbf{r}) & \frac{\partial g_z}{\partial z}(\mathbf{r}) - 1 \end{pmatrix}$$

We may decompose this tensor in its symmetric, $D(\mathbf{r})$, and antisymmetric, $H(\mathbf{r})$, parts [2]:

$$D(\mathbf{r}) = \frac{1}{2} (\mathbf{U}(\mathbf{r}) + \mathbf{U}^T(\mathbf{r}))$$

$$H(\mathbf{r}) = \frac{1}{2} (\mathbf{U}(\mathbf{r}) - \mathbf{U}^T(\mathbf{r}))$$

Such that $\mathbf{U}(\mathbf{r}) = D(\mathbf{r}) + H(\mathbf{r})$.

D is a tensor that describes local deformations while H is a tensor that describes local rotations. The eigenvalues of D describe how the final structure, V_F , is locally deformed (suffering local strains that induce local stretching or compression) to match the initial state, V_0 . The sign of the eigenvalue denotes whether there is a compression or a stretching, while its magnitude indicates the strength of the deformation. Similarly, the eigenvalues of H describe local rotations.

Due to the antisymmetric nature of H , its eigenvalues are always of the form $0, i\alpha, -i\alpha$, that is, one of the eigenvalues is always 0 , and the other two are purely imaginary, complex conjugates of each other (the larger the local rotation, the larger α). At each location of the final state, we summarize the information of these two tensors by a local strain and local rotation as

$$\text{Local Strain } (\mathbf{r}) = |\det D(\mathbf{r})|$$

$$\text{Local Rotation } (\mathbf{r}) = |\alpha(\mathbf{r})|$$

If there is no local strain, all eigenvalues of D should be 0 . The further these eigenvalues are from 0 , the larger the local strain. If an eigenvalue is positive, it means that, locally, the overall effect is a stretching of the molecule. If an eigenvalue is negative, then, locally, the dominant effect is a compression. The determinant is combining the strains in three perpendicular directions, so that there could be compression in one direction and stretching in the other two. The determinant is the multiplication of the three eigenvalues and, consequently, reduces richer information to a single number that can be easily visualized and interpreted.

Spline descriptions of the deformation field are very effective in describing rich deformation fields as well as vector field [3]. Moreover, they allow the analytical calculation at any spatial point of the derivatives needed for the displacement gradient. In this work we consider deformation fields of the form:

$$\mathbf{g}(\mathbf{r}) = \sum_{jkl} \mathbf{c}_{jkl} \beta_3 \left(\frac{\mathbf{r}}{h} - \begin{pmatrix} j \\ k \\ l \end{pmatrix} \right)$$

Where j, k and l are indexes to run over a cubic grid of tensor product splines, $\mathbf{c}_{jkl} \in \mathbb{R}^3$ is a vector of spline coefficients, h is a scale factor, and $\beta_3(\mathbf{r})$ is the three dimensional, tensor product spline defined as

$$\beta_3(\mathbf{r}) = \beta_3(x) \beta_3(y) \beta_3(z)$$

The goal of the image registration problem is to find the coefficients \mathbf{c}_{jkl} such that the suitable geometrical function $\mathbf{g}(\mathbf{r})$ brings the initial and final maps as close to each other as possible, i.e., the norm of their difference is minimized:

$$\text{argmin}_{\mathbf{c}_{jkl}} \|V_F(\mathbf{r}) - V_0(\mathbf{g}(\mathbf{r}))\|^2$$

3. Results

From the $\mathbf{g}(\mathbf{r})$ function we obtain the value of the deformation (local strains and rotations) in each point of the macromolecular complex, caused by the displacement of that part of the complex.

In the following section, we show how the method performs very well in three different experimental cases. It is shown that the method effectively separates local rotations from local strains allowing the researcher to give a biological interpretation of each one of the effects.

3.1. Experiment 1: Human mitochondrial ribosome

In this example we focus on the analysis of the human mitochondrial ribosome using the new tools described in this article.

The most obvious relationship between the pair of maps is that the post-movement macromolecule is rotated by 9° in a local area (the bridge at the right side of the ribosome) with respect to the pre-movement one.

Indeed, this movement is very clearly represented by the analysis of the local rotations that are depicted in *Figure 2 (top)*.

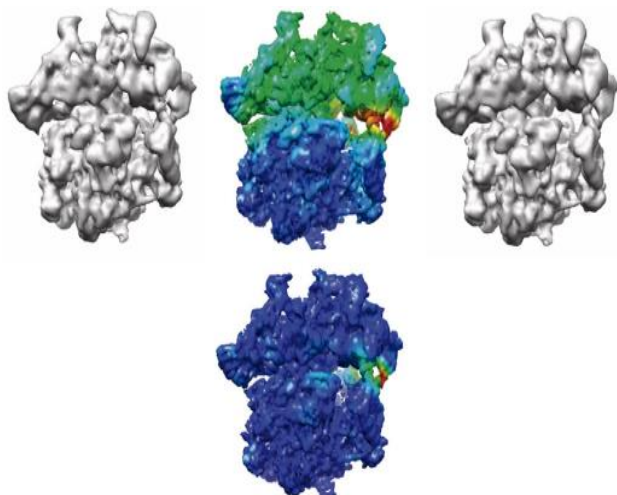


Figure 2. *The human mitochondrial ribosome.*

We can see in the top row, respectively, the initial state (V_0), the 3D local rotation and the final state (V_F). Following it, in the bottom row the local strain is represented. The local rotations and strains are represented as colors (from blue, no movement, to red, maximal movement) on the final state, V_F . It is immediate to realize that the small subunit is very uniformly colored, indicating a close to global rotation of the entire small subunit. Beyond this first observation, the local rotations map indicates strong changes at the bridge between the small subunit and the large one. The large subunit presents some relatively small additional rotations, all concentrated at the interface between the two subunits. The parallel analysis of local stress nicely complements the one of local rotations. Indeed, the level of local stress at the bridge is the most important feature, followed by a relatively small level of stress around it (*Figure 2 bottom*).

As a conclusion, we can say that the bridge between the subunits is particularly dynamic. Our analysis has identified in an automatic, simple and fast manner those areas in which important structural changes have happened.

3.2. Experiment 2: DnaK-GrpE chaperone complex

Here, we show the analysis of the movement of the GrpE tail in the complex with the chaperone DnaK [4]. The input volumes were two different conformations of the complex DnaK-GrpE obtained by electron microscopy. DnaK chaperone comprises two domains, the nucleotide-binding domain (NBD), responsible for structural and functional changes in the chaperone, and the substrate-binding domain (SBD), involved in substrate interaction. Substrate binding and release is controlled by the nucleotide state, with ATP inducing the open, substrate-receptive state, and ADP forces its closure. After the analysis of the EM maps with the method described in this paper, the results explain previous observations [4].

The local analysis introduced in this work correctly identifies the main movements at the interface between the N-terminal domain of GrpE and the SBD of the chaperone.

As exposed below in *Figure 3*, the results of our method show that the major strains occur in the GrpE N-terminal and the major rotations occur in both, NBD and GrpE N-terminal, in total concordance with the movements proposed by the authors in [4].

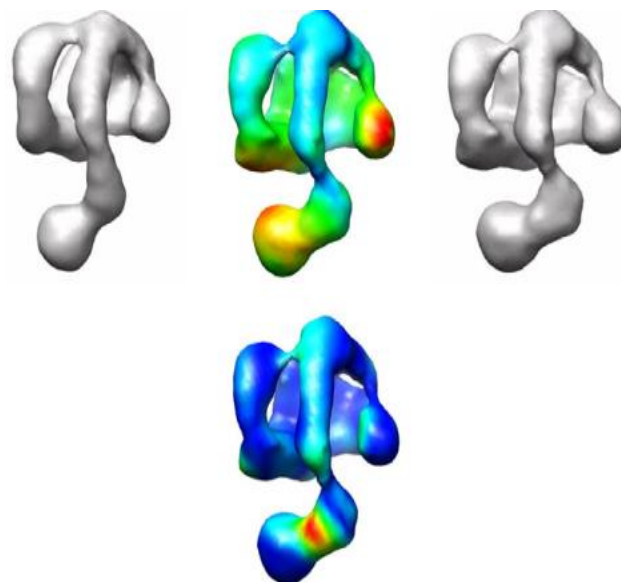


Figure 3. *DnaK-GrpE complex*

As before, in the top row it is illustrated, respectively, the initial state (V_0), the 3D local rotation and the final state (V_F) whereas in the bottom row the local strain is depicted.

3.3. Experiment 3: GroEL

In this example we show the ability of the method to analyze sequences of states. For this purpose we studied the conformational changes induced upon the ATP binding to the GroEL chaperonin [5]. This molecule has a mixture of conformational changes with rigid-body rotations around determined regions and minor local rearrangements of secondary structure. The input volumes were the different structures determined in presence of ATP, which triggers the conformational changes, following the sequence indicated by [5]. The cooperative binding of the ATP to one ring of the molecule produces conformational changes that affects mainly to the apical domains of that ring, while the other ring remains virtually unchanged. As illustrated in the next page in *Figure 4*, the results of our method show that the major rotations and local strains occur in the apical and in the intermediate domains (the top part of the upper ring) in total concordance with the movements proposed by [5].

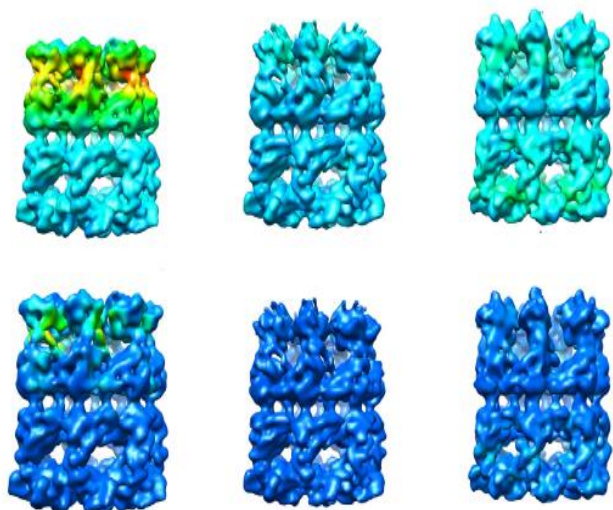


Figure 4. GroEL conformational changes after ATP binding.

4. Conclusions and future work

It is interesting that through the observation and recording of a macromolecular complex executing its function, we are able to determine in which part of its structure a strain (compression or stretching) or rotation is provoked and where not. What is more, we are also capable to calculate the value of that mechanic effort. The first computational method capable of distinguishing between local rotations and local strains is introduced in this paper.

The method is based on the registration of two conformational states of a macromolecule. Furthermore, it is also proved that it can successfully be applied to sequence of states. This method is capable of working at different resolutions, not requiring high resolution to perform the analysis. Still, the higher the resolution, the more accurate the registration will be, resulting in a better estimate of the local deformations. The analysis performed excels the current standard analysis based on morphing between the two states, which only allows you to estimate the regions of the molecule that is changing.

References

- [1] Holden, M. A review of geometric transformations for nonrigid body registration. *IEEE Trans., 2008. Med. Imaging* 27, 111–128.
- [2] Sadd, M.H. *Elasticity: Theory, Applications, and Numerics*. Academic Press, 2005.
- [3] Sorzano, C.O.S., Thévenaz, P., Unser, M. Elastic registration of biological images using vector-spline regularization, 2005. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 52, 652–663.
- [4] Melero, R., Moro, F., Pérez-Calvo, M.Á., Perales-Calvo, J., Quintana-Gallardo, L., Llorca, O., Muga, A., Valpuesta, J.M., 2015. Modulation of the chaperone DnaK allosterism by the nucleotide exchange factor GrpE. *J. Biol. Chem.* 290 (16), 10083–10092.
- [5] Clare, D.K., Vasishtan, D., Stagg, S., Quispe, J., Farr, G.W., Topf, M., Horwich, A.L., Saibil, H.R. Atp-triggered conformational changes delineate substrate binding and -folding mechanics of the GroEL chaperonin, 2012. *Cell* 149 (1), 113–123.

Biomecánica

Jueves 24 de Noviembre

Spatial and temporal variations of the callus mechanical properties during bone transport

J. Mora-Macías¹, E. Reina-Romo², A. Pajares³, P. Miranda³, J. Domínguez²

¹Depto de Ingeniería Minera, Mecánica y Energética. Universidad de Huelva. E-mail: juanmoramacias@gmail.com

²Depto de Ingeniería Mecánica y de los Materiales. Universidad de Sevilla. E-mail: {erreina, jaimed}@us.es

³Depto de Ingeniería Mecánica, Energética y Materiales. U. de Extremadura. E-mail: {apajares, pmiranda}@unex.es

Abstract

Nanoindentation allows obtaining the elastic modulus and the hardness of materials point by point. This technique has been used to assess the mechanical properties of the callus during fracture healing. However, as far as the authors know, the evaluation of mechanical properties by this technique of the distraction and the docking-site calluses generated during bone transport have not been reported yet. Therefore, the aim of this work is using nanoindentation to assess the spatial and temporal variation of the elastic modulus of the woven bone generated during bone transport.

Nanoindentation measurements were carried out using 6 samples from sheep sacrificed at different stages of the bone transport experiments. The results obtained show an important heterogeneity of the elastic modulus of the woven bone without spatial trends. In the case of temporal variation, a clear increase of the mean elastic modulus with time after surgery was observed (from 7 ± 2 GPa 35 days after surgery to 14 ± 2 GPa 525 days after surgery in the distraction callus and a similar increase in the docking site callus). Comparison with the evolution of the elastic modulus in the woven bone generated during fracture healing shows that mechanical properties increase slower in the case of the woven bone generated during bone transport.

1. Introduction

From its introduction by Ilizarov [1,2] distraction osteogenesis has been studied by means of histologies and radiographies [1–5]. These works evaluated the callus tissue types, the ossification modes and other parameters such as angiogenesis within the callus. It was demonstrated that the differentiation and the stiffening of the tissues within the distraction callus depend on the mechanical environment [6,7]. Therefore, knowing the evolution of the callus mechanical properties and tissue types over time contributes to understand the mechanobiology of the new bone regeneration and optimizes the application of distraction osteogenesis in clinical practice by means of numerical models [8–10]. Macroscopic mechanical properties of the distraction callus have been studied in the literature both *ex vivo* [11,12] and *in vivo* [13–19]. Still all methods used in these works do not provide information on the material properties of the distraction callus through the stages of the bone tissue regeneration at a microstructural level. In addition, they do not allow obtaining local variations of the mechanical properties within the callus tissue.

Nanoindentation technique allows determining the elastic modulus and contact hardness of materials point by point with a high spatial resolution [20]. It has been applied successfully to assess the mechanical properties of bone tissue [21–28]. Some of these studies have provided the values of elastic modulus of the callus in fracture healing [21–23]. However, as far as the authors know, no mechanical properties of callus tissue were assessed via nanoindentation during distraction osteogenesis.

Information about spatial and temporal variation of the local elastic modulus and hardness of the callus during distraction osteogenesis could contribute to clarify controversial or unknown aspects in literature about distraction osteogenesis. In addition, in the particular case of bone transport [14–16], the distraction osteogenesis is applied to correct a defect and two focuses of ossification are generated: the distraction callus, as in other applications of distraction osteogenesis, and the docking site callus. The docking site callus is generated once the initial defect is filled and the bone segments contact. As far as the authors know, most of the studies about mechanical parameters assessment have been focused on the distraction callus and not in the docking site callus [14–16]. However, docking site is known to be a frequent source of problems because of the difficulty of its consolidation [29,30].

Therefore, the aim of this work is to assess the spatial and temporal variations of the elastic modulus of the woven bone tissue within the distraction and the docking site calluses during the bone transport process.

2. Materials and methods

Bone transport was applied in sheep and callus samples were characterized via nanoindentation at different stages of the process.

2.1. Sample preparation

The samples used in this study came from a previous bone transport experiment [17]. During this experiment, 11 sheep were sacrificed at different time points and part of the intervened bone (right metatarsus) was preserved for indentation experiments by freezing at -80 °C. Since the aim of this study was the characterization of the woven bone, only specimens in which most of the tissue within the callus had been ossified were used (35, 50, 79, 98, 161 and 525 days after surgery). For each animal,

woven bone samples from the two focuses of woven bone generated during bone transport, the distraction and the docking site calluses, were used. In addition, a cortical bone sample from the proximal bone segment was also obtained for control measurements.

For each sample, a 2 mm width sheet from the surface of the piece was extracted and embedded in epoxy resin (See Figure 1).

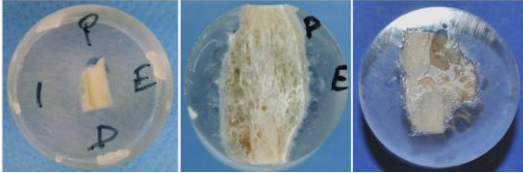


Figure 1. From left to right: cortical bone, distraction and docking-site calluses samples of the sheep sacrificed 161 days after surgery.

2.2. Nanoindentation measurements

Instrumented indentation (Nanotest, Micro Materials Ltd. Wrexham, UK) was performed to determine the reduced elastic modulus (E_r) of the cortical and woven bones. The indentation tests were performed at ambient laboratory conditions using a Berkovich diamond indenter. The load was increased monotonically at a rate of 0.5 mNs^{-1} to a maximum load of 5 mN and held for 40 s before unloading at 0.5 mNs^{-1} rate. The load-depth data were processed using Oliver and Pharr method [20] to determine E_r . The distance between indentations was 50 μm according to the minimum trabecula thickness of the new bone tissue of the callus [31]. Both line and matrix of indentations were carried out (See Figure 2)

3. Results

Indentations carried out in cortical bone reported an average value of E_r of 18.2 GPa, used as reference for comparison with woven bone E_r measurements.

Regarding measurements in the woven bone, micrographs of the distraction callus samples 35 and 161 days after surgery are shown in Figure 2. It may be observed that the porosity level decreases and the woven bone structure is organized with time. Elastic modulus values of the corresponding lineal indentations are also shown. Note that the areas of high porosity correspond with lower levels of mechanical properties.

Mean values of the matrices of indentations in all samples are presented in Figure 3. Blue color represents indentations in cortical bone, green color represents indentations in the woven bone generated in the docking site. The woven bone generated in the distraction callus was indented in proximal, central and distal areas of the callus, represented by red, magenta and yellow colors respectively. Bars represent the mean values of elastic modulus. It may be seen that, for a fixed time point, the woven bone in the docking site usually presents higher values of elastic modulus with respect to the woven bone generated in the distraction callus. Different spatial variations may be observed for each time point in the distraction callus.

To better analyze temporal variations, the measurements of elastic modulus have been represented versus time from surgery in Figure 4. For the distraction callus measurements, it may be seen that the elastic modulus of the woven bone increases exponentially with time from 7 GPa, 35 days after surgery, to 14 GPa, 525 days after surgery approximately. A similar trend may be observed in the docking site although slightly higher values were found as was appreciated in Figure 3.

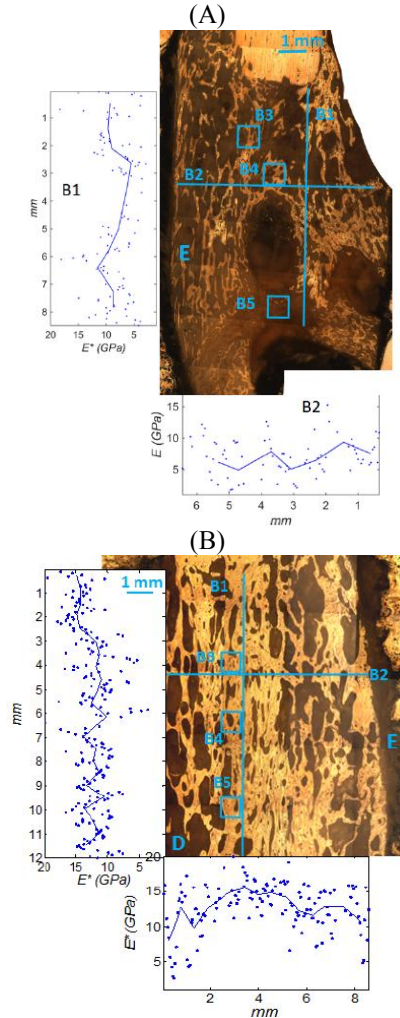


Figure 2. Micrographies of the woven bone generated within the distraction callus (A) 35 and (B) 161 days after surgery. Elastic modulus values along the lines represented are shown.

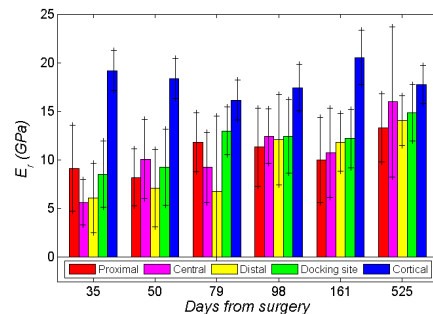


Figure 3. Mean values of the matrices of indentations in all samples

4. Discussion

The results of this study show that the mean value of E_r increases with time both in the distraction and the

docking-site calluses (see Figure 4). Properties of the woven bone generated during fracture healing were measured by Manjubala et al. [23]. Figure 5 allows comparing the results obtained by Manjubala et al. [23] with results of this work. It may be observed that the increase of mechanical properties seems to be faster in the woven bone generated during fracture healing than in the case of bone transport. It may be suggested that the slower increase of E_r in the distraction and docking site calluses may be related to the presence of traction stimuli that does not exist in the case of fracture healing.

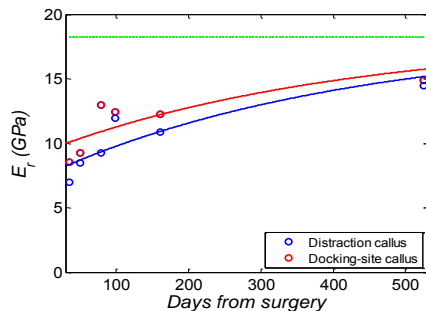


Figure 4. Temporal variation of the elastic modulus of the woven bone generated within the distraction and docking site calluses. The mean elastic modulus of the cortical bone is represented by the green dotted line.

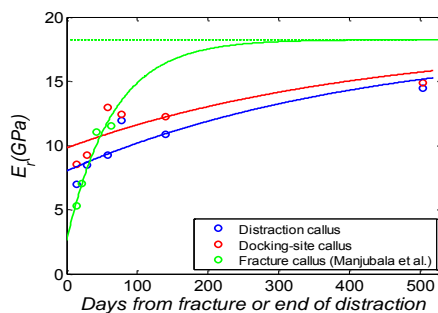


Figure 5. Temporal variation of the elastic modulus of the woven bone generated during bone transport compared to those values in the woven bone generated during fracture healing.

Manjubala et al. [117] reported variations of E_r with the distance from the bone cortex (from the periosteum to the exterior perimeter of the callus) in a fracture healing callus. They found that E_r slightly increases near the periosteum. In this study, variations of E_r were analyzed in two directions within the distraction callus: from the axial edge of the callus to the exterior perimeter and, in longitudinal direction, from proximal to distal (see Figure 2). These results provided different trends in spatial variation of E_r which presented lower values in more porous areas. In one hand, interindividuals differences in the distribution of the local mechanical properties during the process would explain these different trends since samples at each time point were taken from different animals. On the other hand, it could also be assumed that spatial distribution of the mechanical properties varies with time for the same specimen. At the beginning of the process, it is expected that the woven bone close to the cortical bone segments has higher values of E_r because results in other studies [17] showed that the ossification begins close to the cortical bone segments. In fact, higher values of E_r are observed close to the cortical bone segments for the first time point analyzed (see Figure 3).

However, from 50 days after surgery this trend was not kept. For example, 50 days after surgery and 525 days after surgery the central area of the callus had higher values of E_r than proximal and distal areas, closer to cortical bone segments (see Figure 3). It would mean that from a period of time lower than 50 days, the value of E_r does not depend on the age of the tissue. If variation of local mechanical properties is associated to angiogenesis as is suggested in literature [32], according to both hypothesis above, it could be assumed that the growing of the blood vessels may vary particularly for each animal or that spatial distribution and growing of blood vessels vary with time for the same specimen.

Although the outcomes provided by this study are rewarding, there are some limitations associated to the methods employed. Firstly, the methods used for the evaluation of E_r from indentation measurements assume linear elastic behavior. However, the tissue within the callus could present viscoelastic behavior especially during the distraction phase. Secondly, the need of using different animals for each time point introduces a source of variation in measurements. Finally, higher number of animals would allow more statistically significant conclusions.

This work clearly shows that the mean E_r of the woven bone increases during the bone transport process. Both the distraction and the docking site calluses present lower increments of E_r with time than values observed in fracture healing calluses. Furthermore, no repeated relations between E_r and position within the callus were found. These results will be useful to characterize the mechanical behavior of the callus tissue during the distraction processes.

Acknowledgements

We thank the Andalusia government (P09-TEP-5195) and the Spanish government (AP2010-5061, DPI2014-58233-P and MAT2015-64670) for funding.

References

- [1] Ilizarov GA. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues. Part I. The influence of stability of fixation and soft-tissue preservation. *Clinical Orthopaedics and Related Research*; vol 238; 1989, pp 249–81 (ISSN: 0009-921X).
- [2] Ilizarov GA. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues: Part II. The influence of the rate and frequency of distraction. *Clinical Orthopaedics and Related Research*; vol 239; 1989; pp 263–85 (ISSN: 0009-921X).
- [3] Aronson J, Harrison BH, Stewart CL, Harp Jr JH. The histology of distraction osteogenesis using different external fixators. *Clinical Orthopaedics and Related Research*; vol 241; 1989; pp 106–16 (ISSN: 0009-921X).
- [4] Aronson J, Shen XC, Skinner RA, Hogue WR, Badger TM, Lumpkin Jr CK. Rat model of distraction osteogenesis. *Journal of Orthopaedics Research*; vol 15; 1997; pp 221–6 (ISSN: 1554-527X).
- [5] de Pablos Jr J, Canadell J. Experimental physal distraction in immature sheep. *Clinical Orthopaedics and Related Research*; vol 250; 1990; pp73–80 (ISSN: 0009-921X).

- [6] Lanyon LE. Osteocytes, strain detection, bone modeling and remodeling. *Calcified Tissue International*; vol 53; sup 1; 1993; pp S102–6 (ISSN: 0171-967X).
- [7] Riddle RC, Donahue HJ. From streaming-potentials to shear stress: 25 years of bone cell mechanotransduction. *Journal of Orthopaedics Research*; vol 27; 2009; pp 143–9 (ISSN: 1554-527X).
- [8] Isaksson H, Comas O, van Donkelaar CC, Mediavilla J, Wilson W, Huiskes R, et al. Bone regeneration during distraction osteogenesis: mechano-regulation by shear strain and fluid velocity. *Journal of Biomechanics*; vol 40; 2007; pp 2002–11 (ISSN: 0021-9290).
- [9] Reina-Romo E, Gomez-Benito MJ, Dominguez J, Niemeyer F, Wehner T, Simon U, et al. Effect of the fixator stiffness on the young regenerate bone after bone transport: computational approach. *Journal of Biomechanics*; vol 44; 2011; pp 2917–33 (ISSN: 0021-9290).
- [10] Reina-Romo E, Gomez-Benito MJ, Garcia-Aznar JM, Dominguez J, Doblare M. Modeling distraction osteogenesis: analysis of the distraction rate. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 2009; vol 8; 2009; pp 323–35 (ISSN: 1617-7959).
- [11] Ohyama M, Miyasaka Y, Sakurai M, Yokobori Jr AT, Sasaki S. The mechanical behavior and morphological structure of callus in experimental callotaxis. *Biomedical Materials and Engineering*; vol 4; 1994; pp 273–81 (ISSN: 0959-2989).
- [12] Floerkemeier T, Thorey F, Hurschler C, Wellmann M, Witte F, Windhagen H. Stiffness of callus tissue during distraction osteogenesis. *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research*; vol 96; 2010; pp 155–60 (ISSN: 1877-0568).
- [13] Aarnes GT, Steen H, Ludvigsen P, Waanders NA, Huiskes R, Goldstein SA. In vivo assessment of regenerate axial stiffness in distraction osteogenesis. *Journal of Orthopaedics Research*; vol 23; 2005; pp 494–8 (ISSN: 1554-527X).
- [14] Brunner UH, Cordey J, Schweiberer L, Perren SM. Force required for bone segment transport in the treatment of large bone defects using medullary nail fixation. *Clinical Orthopaedics and Related Research*; vol 301; 1994; pp 147–55 (ISSN: 0009-921X).
- [15] Claes L, Laule J, Wenger K, Suger G, Liener U, Kinzl L. The influence of stiffness of the fixator on maturation of callus after segmental transport. *Journal of Bone and Joint surgery (British Vol)*; vol 82; 2000; pp 142–8 (ISSN: 0301-620X).
- [16] Hyodo A, Kotschi H, Kambic H, Muschler G. Bone transport using intramedullary fixation and a single flexible traction cable. *Clinical Orthopaedics and Related Research*; vol 325; 1996; pp 256–68 (ISSN: 0009-921X).
- [17] Mora-Macias J, Reina-Romo E, López-Pliego M, Giráldez-Sánchez MA, Domínguez J. In Vivo Mechanical Characterization of the Distraction Callus During Bone Consolidation. *Annals of Biomedical Engineering*; vol 43; sup 11; 2015; pp 263-74 (ISSN: 0090-6964).
- [18] Mora-Macias J, Reina-Romo E, Domínguez J. Distraction osteogenesis device to estimate the axial stiffness of the callus in Vivo. *Medical Engineering Physics*; vol 37; sup10; 2015; pp 969-78 (ISSN: 1350-4533).
- [19] Mora-Macias J, Reina-Romo E, Domínguez J. Model of the distraction callus tissue behavior during bone transport based in experiments in vivo. *Journal of Mechanical Behavior of Biomedical Materials*; vol 61; 2016; pp 419–30 (ISSN: 1751-6161).
- [20] Oliver WC, Pharr GM. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *Journal of Materials Research* vol 7; 1992; pp 1564–83 (ISSN: 0884-2914).
- [21] Leong PL, Morgan EF. Measurement of fracture callus material properties via nanoindentation. *Acta Biomaterialia*; vol 4; 2008; pp 1569–75 (ISSN: 1742-7061).
- [22] Leong PL, Morgan EF. Correlations between indentation modulus and mineral density in bone-fracture calluses. *Integrative and Comparative Biology*; vol 49; 2009; pp 59–68 (ISSN: 1540-7063).
- [23] Manjubala I, Liu Y, Epari DR, Roschger P, Schell H, Fratzl P, et al. Spatial and temporal variations of mechanical properties and mineral content of the external callus during bone healing. *Bone*; vol 45; 2009; pp 185–92 (ISSN: 8756-3282).
- [24] Rodriguez-Florez N, Oyen ML, Shefelbine SJ. Insight into differences in nanoindentation properties of bone. *Journal of Mechanical Behavior of Biomedical Materials*; vol 18; 2013; pp 90–9 (ISSN: 1751-6161).
- [25] Rodriguez-Florez N, Garcia-Tunon E, Mukadam Q, Saiz E, Oldknow KJ, Farquharson C, et al. An investigation of the mineral in ductile and brittle cortical mouse bone. *Journal of Bone and Mineral Research*; vol 30; sup 5; 2014; pp 786-95 (ISSN: 1523-4681).
- [26] Rodriguez-Florez N, Oyen ML, Shefelbine SJ. Age-related changes in mouse bone permeability. *Journal of Biomechanics*; vol 47; 2014; pp 47:1110–6 (ISSN: 0021-9290).
- [27] Tai K, Dao M, Suresh S, Palazoglu A, Ortiz C. Nanoscale heterogeneity promotes energy dissipation in bone. *Nature Materials*; vol 6; 2007; pp 454–62 (ISSN: 1476-1122).
- [28] Tai K, Ulm F-J, Ortiz C. Nanogranular origins of the strength of bone. *Nano Letters*; vol 6; 2006; pp 2520–5 (ISSN 1530-6984).
- [29] Iacobellis C, Berizzi A, Aldegheri R. Bone transport using the Ilizarov method: a review of complications in 100 consecutive cases. *Strategies in Trauma Limb Reconstruction*; vol. 5; 2010; pp 17–22 (ISSN: 1828-8928).
- [30] Marsh DR, Shah S, Elliott J, Kurdy N. The Ilizarov method in nonunion, malunion and infection of fractures. *Journal of Bone and Joint surgery (British Vol)*; vol 79; 1997; pp 273–9 (ISSN: 0301-620X).
- [31] López-Pliego M, Giráldez-Sánchez MA, Mora-Macias J, Reina-Romo E, Domínguez J. Histological evolution of the regenerate during bone transport. experimental study in sheep. *Injury*; 2016 (ISSN: 0020-1383)
- [32] Morgan EF, Hussein AI, Al-Awadh BA, Hogan DE, Matsubara H, Al-Alq Z, et al. Vascular development during distraction osteogenesis proceeds by sequential intramuscular arteriogenesis followed by intraosteal angiogenesis. *Bone*; vol 51; 2012; pp 535–45 (ISSN: 8756-3282).

Diseño experimental de una novedosa prótesis de reemplazo total de disco lumbar

² Andrés Peñuelas Herráiz

¹ Vicente Vanaclocha Vanaclocha

² Arturo Gómez Pellín

² Juan Alfonso Gómez Herrero

¹ Juan Manuel Herrera

³ Carlos M. Atienza Vicente

¹ Hospital General Universitario de Valencia, España, vvancl@hotmai.com

² Instituto de Biomecánica de Valencia, España, carlos.atienza@ibv.upv.es

³ Instituto de Biomecánica de Valencia-CIBER BBN, Grupo de Tecnología Sanitaria (GTS-IBV), Valencia, España, carlos.atienza@ibv.upv.es

Resumen

En el presente trabajo se presenta el desarrollo y análisis biomecánico de una prótesis de disco de nueva generación que aúna movilidad limitada y amortiguación. El diseño se basó en la aplicación de novedosos algoritmos de cálculo de los CIR (Centro Instantáneo de Rotación) de las unidades vertebrales. A la prótesis se le incorporó un tratamiento superficial para tratar de disminuir el desgaste y materiales elásticos en su zona intermedia que tienen un efecto amortiguador de las cargas y de movimientos. El comportamiento de la prótesis fue validado mediante modelos de elementos finitos del implante ante cargas fisiológicas y ensayos de desgaste en un simulador del raquis lumbar.

1. Introducción

La degeneración discal lumbar constituye un proceso natural que aumenta con la edad. En aquellos pacientes en los que el tratamiento conservador falla, la prótesis de disco lumbar es una alternativa a la fusión que ha ido ganando mucha aceptación en las últimas dos décadas, debido a que preserva la movilidad del segmento afecto sin comprometer los niveles adyacentes. A continuación, se presenta el desarrollo y análisis biomecánico de una prótesis de disco de nueva generación que aúna movilidad limitada y amortiguación.

2. Objetivos

Presentar el diseño experimental de una nueva prótesis de disco lumbar, haciendo énfasis en las mejoras que la misma tendría en los parámetros cinemáticos, con respecto a otros implantes que actualmente están disponibles en el mercado.

3. Material y Métodos

El estudio cinemático se llevó a cabo en varios segmentos vertebrales de la zona lumbar de especímenes de raquis cadavéricos mediante técnicas de fotogrametría. Empleamos el KINESCAN/IBV[®], que es un sistema completo de análisis de movimientos 3D basado en tecnologías digitales de vídeo, para evaluar los desplazamientos reales en las unidades funcionales de la columna (Figura 1). Cada prueba consistió en la repetición de una serie cíclica de movimientos de flexión y extensión mediante la aplicación progresiva de la carga a uno y otro lado de la barra. En cada prueba se completaron 5 ciclos.



Figura 1. Columna lumbar con marcadores.

Dichos datos han sido posteriormente analizados para obtener el CIR (Centro Instantáneo de Rotación) de las unidades vertebrales estudiadas y una geometría novedosa que reproduzca el movimiento de la unidad vertebral funcional basándose en los cambios de posición de los CIR [1,2].

Para el diseño del implante se tuvieron en cuenta las dimensiones medias de las vértebras, rango de

movimientos, características mecánicas, propiedades de desgaste de los materiales utilizados.

Los diseños se realizaron con software CAD (SolidWorks; Dassault Systèmes SolidWorks Corp.), y los cálculos del comportamiento frente a cargas mediante el método de los elementos finitos (MEF) (Ansys, ANSYS Inc.). Las cargas aplicadas al modelo fueron de: compresión (2000 N), flexión lateral (7,5 Nm), flexión (7,5 Nm), extensión (7,5 Nm) y cargas combinadas de flexión-compresión y extensión-compresión.

Para la caracterización a desgaste del implante se utilizó un simulador de desgaste de columna que aplica cargas y movimientos similares a los de la columna lumbar (Figura 2).



Figura 2. Simulador de desgaste.

Las cargas y movimientos aplicadas se basaron en norma ISO 18192-1 (Figura 3). Los ensayos de desgaste se realizaron a 1,5 M de ciclos a una frecuencia de 1 Hz. Tras la fabricación de los prototipos de 2 modelos alternativos de la nueva prótesis, se llevaron a cabo ensayos de desgaste en el simulador de columna.

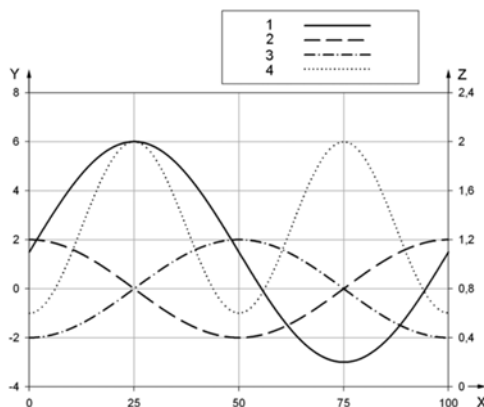


Figura 3. Curvas de Fuerza y Desplazamiento exigidas por la norma ISO 18192-1 para una prótesis de disco lumbar [3]. Parámetros del gráfico: X: %Ciclo, Y: Angulo (°), Z: Fuerza (N). 1: Flexo-Extensión, 2: Flexión Lateral, 3: Rotación, 4: Fuerza.

Para cada uno de los modelos se ensayaron un total de 3 prótesis, exceptuando el caso del modelo 2. En este caso, además de las 3 prótesis ensayadas, se empleó un inserto adicional de PCU como control, con el fin de evaluar la absorción de agua de la muestra. Los pares de materiales ensayados se presentan en la Tabla 1.

El ensayo se realizó en un ambiente controlado que simula las condiciones fisiológicas. Las superficies articulares de la prótesis de disco se mantuvieron sumergidas en una

solución de suero bovino con una concentración de proteínas totales similar a las concentraciones proteicas analizadas en el fluido sinovial de articulaciones humanas. Durante la realización del ensayo, la solución lubricante se renovó periódicamente cada semana, para evitar el deterioro y contaminación excesiva de la misma.

Modelo	Descripción	Tratamiento superficial
Modelo 1 – T1 (3 muestras)	Prótesis con sistema de bloqueo. Se compone de dos piezas de CoCrMo.	Componente hembra con nitrógeno a 350°C
Modelo 1 – T2 (3 muestras)	Prótesis con sistema de bloqueo. Se compone de dos piezas de CoCrMo.	Componente hembra y macho se trataron con nitrógeno y oxígeno a 300 y 350 °C respectivamente
Modelo 1 – control (3 muestras)	Prótesis con sistema de bloqueo. Se compone de dos piezas de CoCrMo.	Sin tratamiento
Modelo 2 (3+1 muestras)	Modelo con pieza intermedia de PCU	Sin tratamiento

Tabla 1. Pares de materiales utilizados.

4. Resultados

4.1. Diseño

Del estudio del comportamiento biomecánico de la columna se extrajeron las superficies que definirán el movimiento que deberá desarrollar la prótesis y el nivel de los mismos en flexión/extensión, flexión lateral y rotación axial (Figura 4A).

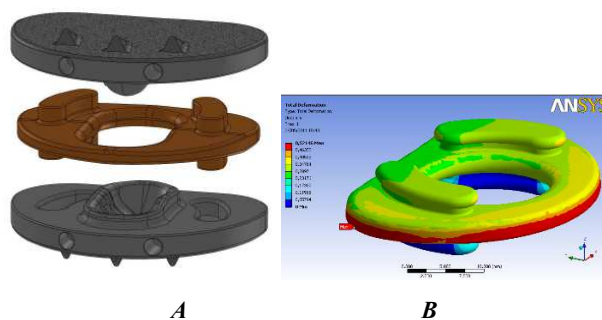


Figura 4. A: Geometría del implante y pieza intermedia de PCU. B: Tensiones en la pieza de PCU.

Por otro lado, el diseño del implante se compuso de dos placas terminales hechas de la aleación de CoCrMo y un componente intermedio de PCU (en Modelo 2) con función de amortiguación de los impactos y redistribución de las cargas (Figura 4B).

4.2. Desgaste

El **desgaste total medio acumulado** a 1,5 Millones de ciclos para cada uno de los modelos de prótesis de disco y sus respectivos componentes aparece descrito en la Figura 5. En las Figuras 5 y 6 se muestra una comparativa de las curvas de desgaste (en mg o en mm³/Mciclos) para cada uno de los modelos ensayados. Puede apreciarse como el peor comportamiento frente al desgaste es el mostrado por

la prótesis Modelo 1 con el tratamiento superficial 1 (T1). Por el contrario, el mejor comportamiento es el del Modelo 1 - control. Cabe destacar que las principales diferencias en lo que a comportamiento frente a desgaste se refiere se dan para el caso del componente superior de la prótesis Modelo 1 – T1, el cual fue tratado superficialmente.

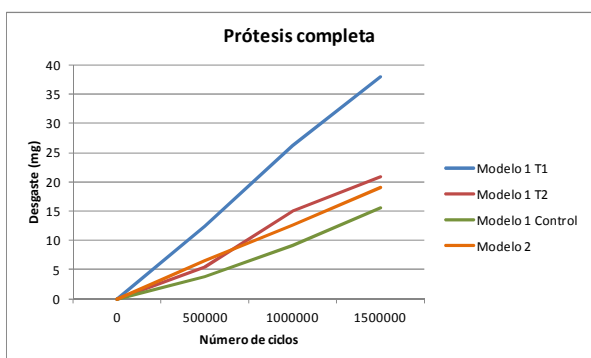


Figura 5. Desgaste de los pares de materiales.

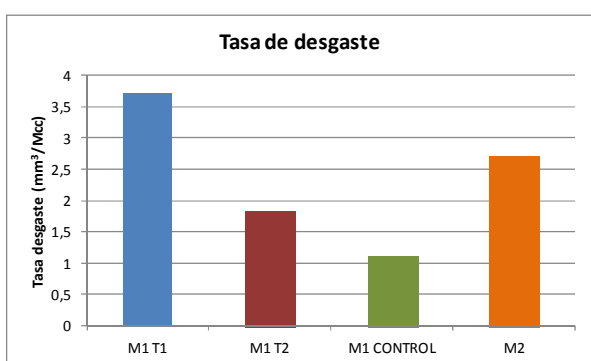


Figura 6. Comparativa de la tasa de desgaste (mm³/1 millón de ciclos) para cada modelo de prótesis de disco ensayado.

5. Discusión

En el Modelo 1 - control no se aplicó tratamiento superficial. Sin embargo, la tasa de desgaste fue inferior a la del mismo modelo con las dos alternativas de tratamiento (M1 T1 y M1 T2). Esta diferencia se puede justificar por la mala adherencia que éste tuvo en la superficie de la pieza. Asimismo, para el Modelo 2 (también sin tratamiento), su desgaste fue superior al del Modelo 1 – control. Esta diferencia se podría achacar a la existencia de un componente adicional a los metálicos, sujeto a desgaste, en el Modelo 2: el inserto de PCU.

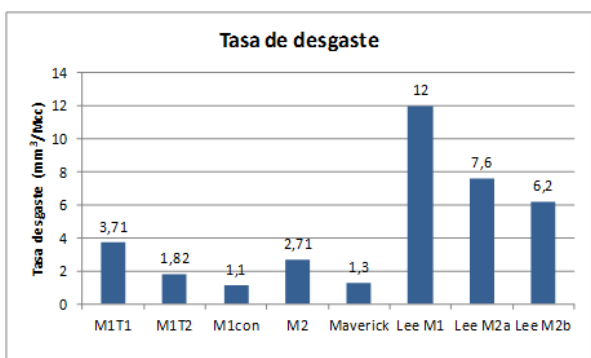


Figura 7. Comparativa de la tasa de desgaste (mm³/1 millón de ciclos) para cada uno de los modelos de prótesis de disco ensayado, para el modelo de prótesis comercial Maverick [4], y el modelo experimental ensayado por Lee et al. [5].

Si comparamos los resultados obtenidos con otros estudios publicados sobre evaluación in vitro del desgaste en prótesis de disco lumbar con par de fricción metal-metal (Figura 7), observamos que la tasa de desgaste media obtenida en las prótesis desarrolladas en el proyecto es para el modelo M1 – control, ligeramente inferior a la mostrada por la prótesis comercial Maverick [4]. En lo que respecta a las 3 variaciones de la prótesis ensayada por Lee et al. [5], el comportamiento mostrado por las prótesis desarrolladas en este proyecto es claramente superior.

6. Conclusiones

Se ha desarrollado, fabricado y evaluado con materiales definitivos una novedosa prótesis de disco lumbar que limita los movimientos de flexión y rotación mediante una geometría única y al tiempo permite una transmisión más amortiguada de las cargas y un menor desgaste (Figura 8).



Figura 8. Prótesis lumbar desarrollada.

Por último, es destacable que los tratamientos superficiales no han mejorado el comportamiento a desgaste y esto es debido a que se producen desprendimientos del material de recubrimiento.

Agradecimientos

Al CDTI y Socinser por financiar el trabajo de investigación y desarrollo a través del proyecto colaborativo ADDISC.

Referencias

- [1] Page, Á., de Rosario, H., Mata, V., Atienza, C. (2009). "Experimental analysis of rigid body motion. A vector method to determine finite and infinitesimal displacements from point coordinates." *Journal of Mechanical Design*, 131(3), 031005.
- [2] Page, Á., De Rosario, H., Gálvez, JA., Mata, V. (2011). "Representation of planar motion of complex joints by means of rolling pairs. Application to neck motion." *Journal of biomechanics*, 44(4), 747-750.
- [3] Norma ISO 18192-1:2008. "Implants for surgery — Wear of total intervertebral spinal disc prostheses. Part 1: Loading and displacement parameters for wear testing and corresponding environmental conditions for test."
- [4] Mathews, H.H., Lehuec, C., Friesem, T., Zdeblick, T., Eisermann, L. "Design rationale and biomechanics of Maverick Total Disc arthroplasty with early clinical results." *Spine J.* 2004 Nov-Dec;4(6 Suppl):268S-275S.
- [5] Lee, J.L., Billi, F., Sangiorgio, S.N., McGarry, W., Krueger, D.J., Miller, P.T., McKellop, H., Ebramzadeh, E. "Wear of an experimental metal-on-metal artificial disc for the lumbar spine." *Spine* (Phila Pa 1976). 2008 Mar 15;33(6):597-606.

Desarrollo de una simulación biomecánica para la determinación de las cargas sobre la fascia plantar durante el ciclo de marcha

S. García¹, J. C. García²

¹ Universidad Politécnica de Madrid, España, {sara.gdevilla@gmail.com} ²Departamento de Mecánica de Medios Continuos y Teoría de Estructuras de la Universidad Politécnica de Madrid, España {juancarlos.garcia@upm.es}

Resumen

La fascia plantar es una de las principales estructuras que soportan el arco del pie. Su principal desorden es la fascitis plantar, que causa el 80 % de los dolores de talón, afectando a un 10 % de la población. Esto conlleva un gran coste sanitario que puede disminuirse con el conocimiento del tejido, su mecánica y las opciones para la prevención de la enfermedad. En este trabajo se ha implementado un modelo de OpenSim en el que se ha añadido la fascia plantar y se han realizado los cambios necesarios para su análisis. A partir de dicho modelo se han obtenido las cargas de la fascia durante la fase de apoyo de la marcha, determinándose una carga máxima de 1.50 veces el peso corporal (BW), validándose con estudios previos realizados In Vivo y con cadáveres. A partir de los resultados obtenidos se sugieren nuevas líneas de investigación.

1. Introducción

La fascia plantar se define como el tejido conectivo grueso que soporta el pie [1][2][3][4]. Se prolonga desde la tuberosidad del calcáneo hasta la cabeza de los metatarsos [5] y su fin es soportar tensiones al apoyar el peso [2] (soporta el 14 % de las cargas del pie cuando se está levantado) y absorbe el impacto con el suelo a través de su deformación, llegando a elongarse entre un 9 y un 12% en el levantamiento del pie [3]. Su principal desorden es la fascitis plantar, que resulta en dolor en el talón y en la parte inferior del pie [4] [6]. Las causas no están claras, aunque se conoce que la enfermedad se caracteriza por la presencia sucesiva de micro roturas en el tejido que sobrepasan su capacidad de regeneración [2]. En los casos en los que la fascitis plantar no se soluciona con tiempo y métodos conservativos, se ha de realizar una cirugía [6]. Sin embargo, la fasciotomía plantar completa está comprometida por el aumento de la deformación de la fascia y de la tensión en la parte medial del pie y los metatarsos, pudiendo conllevar inestabilidad del arco y síndromes asociados [5][7][8][9], además de estropear el mecanismo de distribución de fuerzas y la propulsión de la marcha [9][10]. La importancia del conocimiento de este tejido y su enfermedad más característica reside en su epidemiología: aproximadamente, el 10 % de las personas sufren esta enfermedad en algún momento de su vida [2], suponiendo un gran coste sanitario: en Estados Unidos se produce un gasto anual de 247 millones de dólares.

Una de las opciones para el estudio de la fascia plantar es a través de un modelo multicuerpo biomecánico. En este trabajo se desarrolla un modelo con los pies lo más completos posible a partir de un modelo de marcha del repositorio de OpenSim [11][12]. Al modelo inicial se le modifican los pies, puesto que los presenta como un único sólido rígido cada uno, se añade la fascia plantar a modo de ligamento adecuándola al modelo y se modifica la dinámica y las fuerzas externas aplicadas en los pies. Posteriormente, se analizan las cargas dinámicas de la fascia, las cargas de los músculos principales presentes en los pies y los efectos de la fasciotomía plantar completa.

2. Metodología

Se determinó que la mejor opción era la utilización del modelo Gait2392, presente en el repositorio de OpenSim, por ser el más completo en la extremidad inferior y permitir análisis cinemáticos y dinámicos. Es un modelo tridimensional del sistema musculoesquelético con 23 grados de libertad que contiene las articulaciones de las extremidades inferiores [13], la antropometría y las articulaciones de la espalda [14], un modelo de rodilla plana [15] y 92 actuadores de músculo-tendón que representan 76 músculos en las extremidades inferiores y el torso. Los datos experimentales incluidos en los archivos de este modelo, se obtuvieron como parte de un estudio sobre la estabilización de la marcha [16]. Las articulaciones más importantes para este estudio que se encuentran predefinidas por el modelo son la del tobillo, la subtalar y la metatarsofalángica [17] con un valor de 0° durante el ciclo de marcha. El análisis de una estructura tan específica como es la fascia plantar requiere un diseño de pie más completo que el descrito previamente. Por ello, se ha adaptado a las necesidades requeridas mediante los cambios siguientes.

2.1. Modelado de la fascia

La fascia se añadió con el modelo de ligamento que posee OpenSim. Los parámetros a fijar son:

- `Geometry_Path`: define la trayectoria desde la tuberosidad del calcáneo hasta la base de los dedos de los pies. Se tiene en cuenta el efecto de los metatarsos añadiendo un objeto “wrap”.

- Resisting_length (l_0): establece la longitud de la fascia a partir de la que va a ejercer una fuerza con un pretensado nulo.
- Pcsa_force: es el parámetro del escalado de la curva de fuerza/elongación. En todos los modelos tiene un valor de 1000.0 N.
- Force_length_curve: es la curva de fuerza ejercida en el ligamento en función de su elongación. Puesto que en el programa se define la elongación como la longitud en cada momento entre l_0 , la curva responde a: $\frac{F}{Pcsa_force} = K \cdot (\frac{l}{l_0} - 1)$. Siendo l la longitud de la fascia y K la pendiente adimensional, definida como $K = k \cdot (\frac{l_0}{Pcsa_force})$ donde k es el valor de rigidez de la fascia.

Al añadir el pretensado, la curva se ve modificada y responde a: $\frac{F}{Pcsa_force} = K \cdot (\frac{l}{l_0} - 1 + \delta)$. Donde δ es el valor del pretensado entre la pendiente de la curva.

En el modelo de un segmento se establece la rigidez de la fascia en 203.7 N/mm, obteniéndose $K = 33.081$ para $l_0 = 0.1624$ m. En el caso del pretensado (0.47 BW) [18], se añade un $\delta = 0.01$.

En el modelo de cinco segmentos, los parámetros establecidos se encuentran en la Tabla 1. La rigidez asignada a cada segmento es de 40.74 N/mm y su δ de 0.002, la masa del pulgar de 0.0622 kg, la de los tres dedos centrales de 0.0415 kg y el menor 0.0207 kg.

	fp 1	fp 2	fp 3	fp 4	fp 5
K	6.9665	6.7221	6.6203	5.9725	5.5406
l_0	0.1710	0.1650	0.1625	0.1466	0.1360

Tabla 1. Parámetros definidos en el modelo de cinco segmentos en el que se considera el ángulo del mediopié además de los ángulos individuales de los dedos.

2.2. Separación de cuerpos.

En base a estudios previos en los que se mostraba la influencia de la articulación del mediopié en el eje longitudinal [1][3][7][19], se separó el pie en tres cuerpos: calcáneo, medio del pie y dedos. Puesto que se desconocen los parámetros inerciales y la masa de estos nuevos cuerpos, se mantuvieron los inerciales, se repartió la masa y se aproximó el centro de masa. La separación de cuerpos implicó la implementación de las dos nuevas articulaciones presentes en la Figura 1: una entre el astrágalo y la parte media del pie [20] y otra entre el astrágalo y el calcáneo [17].

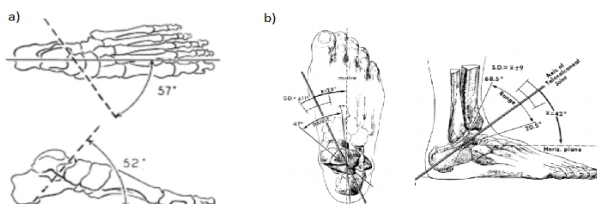


Figura 1. (a) Eje oblicuo de la articulación del mediopié. La orientación se muestra en el plano sagital en la fila

superior y en el transversal en la inferior [20]. (b) Eje de la articulación subtalar en el plano transversal y longitudinal en izquierda y derecha, respectivamente [17].

2.3. Modificación de las acciones externas (plataforma)

El modelo original contiene una fuerza y un momento externos aplicados en cada pie. Al separarlos, se debe realizar un reparto de esas acciones en los sólidos que se crean. Para hacerlo, se sustituyó el sistema de acciones original (resultante y momento) por otro con dos fuerzas únicas. En el nuevo sistema, la suma de componentes y de momentos es igual a la fuerza y momento de la fuerza original, respectivamente, aplicándose las nuevas en los puntos más próximos al suelo de ambos cuerpos. Surge un problema en la resolución puesto que se genera un sistema indeterminado debido a que la presencia de una componente según la recta que une ambos puntos con la misma carga y signo opuesto no altera las resultantes de fuerza y momento. Para solucionarlo, se aproxima la fuerza perpendicular al plano sagital del sujeto en función de la distancia al punto de aplicación de la original y se utiliza el software Matlab R2015 para resolverlo.

2.4. Modificación del movimiento.

Como el ángulo de los dedos se encuentra predefinido a cero, se implementó un movimiento más realista del pie [1]. En el modelo de un segmento se utilizó el ángulo de la segunda falange y en el de cinco todos ellos. Además, se introdujo el ángulo del mediopié [21].

Con estos cambios se obtienen los siguientes modelos:

1. Sin fascia, para el análisis de los efectos de la cirugía.
2. Con fascia de un segmento: modelo muy simplificado de la fascia plantar desde el calcáneo hasta el segundo metatarsiano.
3. Con fascia de un segmento precargada: similar al anterior pero teniendo en cuenta la precarga de la fascia en longitud neutral.
4. Con fascia de cinco segmentos con cinco dedos independientes entre sí, considerando el ángulo del mediopié.
5. Con fascia de cinco segmentos precargada: similar al anterior con la fascia plantar pretensada.

2.5. Análisis de los modelos.

Para el estudio de las cargas de la fascia, se siguió el flujo de trabajo basado en un experimento previo desarrollado por la NASA [22]. En primer lugar, se utilizó la el escalado para modificar la antropometría del modelo, consiguiendo un tamaño de 1.80 m y un peso de 72 kg [12]. Tras ello, se hizo un análisis de cinemática inversa, que trajo los datos tomados a través del sistema de captura y de los marcadores a la evolución en el tiempo de los grados de libertad del modelo. El resultado del análisis fueron las coordenadas generalizadas de cada una de las articulaciones del modelo. Se modificaron las coordenadas de la articulación metatarsofalángica de los pies y se procedió al resto del análisis con el nuevo movimiento. Por último, se realizó el análisis dinámico:

en primer lugar se hizo un análisis de dinámica inversa y, para finalizar, la optimización estática. La dinámica inversa determinó las fuerzas generalizadas asociadas a los grados de libertad del modelo. Por último, la optimización estática, extensión de la dinámica inversa, llega hasta el cálculo de las fuerzas individuales en cada músculo. Se utilizó el movimiento del modelo para resolver ecuaciones dinámicas de las fuerzas generalizadas desconocidas, sujeto a que la activación muscular proviene de un generador de fuerza ideal (sólo depende del nivel de activación, fuerza isométrica máxima y brazo del momento).

3. Resultados

Los resultados se corresponden con los ficheros de salida de la optimización estática. En cuanto a la tensión en la fascia plantar, los resultados correspondientes al modelo de un segmento, presentaron dos picos destacables: el primero de 1.35 veces el peso corporal (BW) sin precarga y 0.95 BW con ella, y el segundo de 1.75 BW sin precarga y 1.2 BW con ella. El primer pico corresponde al aumento del ángulo de los dedos al final de la fase de vuelo y el segundo al aumento del mismo ángulo al terminar la de apoyo. Por otro lado, en el modelo de cinco segmentos, la tensión de la fascia plantar se calculó como la suma de las tensiones en los cinco segmentos que la componen, resultando un máximo de 1.5 BW sin precarga y 1.56 BW con ella.

Para el estudio de las cargas en los músculos del pie, se estudiaron los principales grupos musculares: el inversor y el eversor. En OpenSim se representan como cinco y cuatro segmentos, respectivamente, de modo que las fuerzas se calculan como la suma de las fuerzas de cada uno de ellos. Los resultados se presentan en la Tabla 2.

	Cargas musculares	
	Inversor	Eversor
Sin fascia	182.1	598.5
Fascia de un segmento sin pretensado.	308.1	742.1
Fascia de un segmento con pretensado	426.6	965.2
Fascia de cinco segmentos	1920.0	2067.0

Tabla 2. Cargas (N) presentes en los principales grupos musculares de los pies.

Por último, los resultados de altura y longitud del arco se realizaron por ser los dos principales parámetros que se ven afectados tras una fasciotomía plantar completa. Sin embargo, los resultados obtenidos al introducir la fascia la altura y la elongación no sufren ningún cambio, ya que no se modifica el ángulo del mediopié y esas longitudes permanecen, por tanto, constantes.

4. Discusión.

Las curvas de tensión resultantes poseen dos picos que deberían ser funciones más suave en torno a sus máximos. De cualquier modo, en la Figura 2 se observa que los

valores de la fascia con pretensado (máx. 1.96 BW) se aproximan a los de referencia (máx. 1.53 BW [18]) menos que la fascia sin pretensado (máx. 1.22 BW). El pretensado aumentó ambos picos de tensión de la fascia porque las cargas en OpenSim se calculan a partir de una cinemática dada. Esto supuso un problema en el modelo utilizado ya que la cinemática del pie se capturó sobre una zapatilla, por lo que es una captura muy pobre. Para solventar el problema se desarrolló un modelo de cinco segmentos en el que se añadió la cinemática capturada en otros estudios [18] [21] y se obtuvieron los resultados de la Figura 3. Por otro lado, el desfase que se aprecia en el segundo pico de tensión lo causó de nuevo la dependencia cinemática, ya que el máximo de la dorsiflexión de los dedos ocurre en torno al 90% de la fase de apoyo.

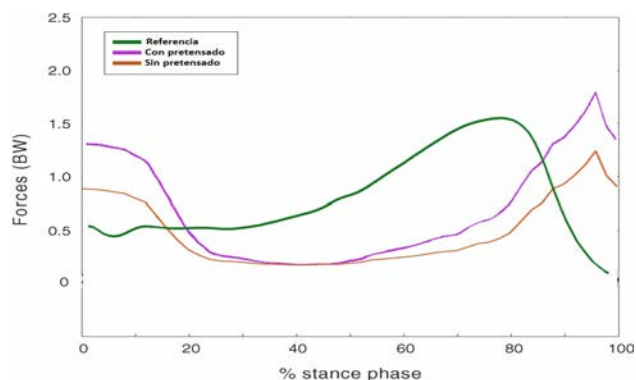


Figura 2. Curvas de fuerza de la fascia plantar a lo largo de la fase de apoyo. En verde los valores de referencia [18].

Con el modelo de cinco segmentos se obtienen valores muy próximos a la referencia: 1.5 BW sin pretensado y 1.56 BW con pretensado frente a 1.53 BW de referencia. Aunque se ha ajustado la carga en los picos, no se ha ajustado durante todo el ciclo (véase la región recuadrada en rojo de la Figura 3). Para conseguir resultados más realistas se habrían de considerar el resto de articulaciones presentes en el pie, además de un mejor conocimiento de los huesos del pie, sus centros de masa y parámetros inerciales. A esto se añaden el error de la aproximación del eje de giro del mediopié al eje perpendicular al plano sagital, haciendo que los dos primeros segmentos de fascia tengan menor carga que el tercero, debiendo ocurrir lo contrario.

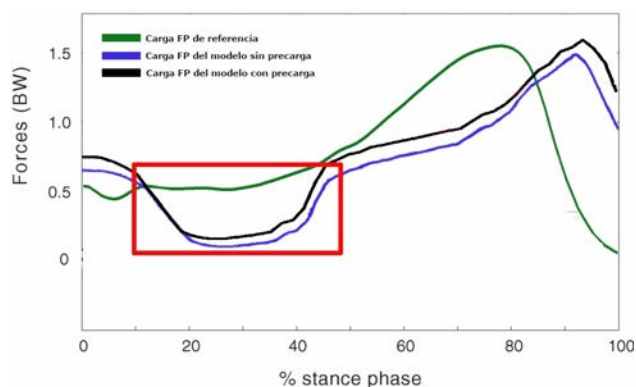


Figura 3. Curva de la fuerza de la fascia plantar a lo largo de la fase de apoyo en el modelo de cinco segmentos. En verde aparecem los valores de referencia [18].

En cuanto a las cargas musculares, aumentaron a medida que aumenta la tensión de la fascia plantar, resultando la menor carga en el caso de fasciotomía completa. No se han encontrado estudios que validen estos resultados, aunque se esperaba el efecto contrario. Sin embargo, al no conocerse la explicación de las cifras y haber tantos factores en la mecánica que se estudia, pueden ser resultados correctos.

Por último, la altura y longitud del arco resultantes, no son útiles para cumplir el objetivo buscado: estudio de estos factores con una fasciotomía plantar completa. Esto es debido de nuevo a que OpenSim trabaja con una cinemática dada, por lo que no se ve afectada al introducir o eliminar la fascia plantar.

5. Conclusiones.

OpenSim permite la adecuación de modelos para el estudio de estructuras concretas como es, en este caso, la fascia plantar. Sin embargo, la propia adecuación del modelo es una de las principales dificultades que presentan debido a que no existe una documentación que aclara cómo se han de realizar los cambios o el fundamento que se ha de seguir. Otra de las limitaciones importantes es la falta de conocimiento del eje de cada una de las articulaciones presentes en el pie, la representación del pie del modelo como un único cuerpo y, sobre todo, la deficiente captura de los datos del movimiento del pie para el objetivo buscado. Por ello, se propone la realización de una captura detallada del pie y todos sus movimientos sobre sujetos concretos de los que se capturasen los movimientos de manera exhaustiva, para desarrollarse un estudio más preciso de las cargas en la fascia plantar, pudiéndose analizar la correlación entre las tensiones de la fascia y la incidencia de fascitis plantar. Además, con el mismo flujo de trabajo, se pueden realizar estudios de los efectos de distintas cirugías sobre el pie. No obstante, el modelo ha sido capaz de reproducir el pico de carga máxima de la fascia más importante por estar implicado en el mecanismo de polea que ocurre con la dorsiflexión de los dedos contra el suelo, lo que implica que la simulación se aproxima en gran medida a la realidad. Por tanto, los resultados obtenidos pueden emplearse en un modelo de pie tridimensional de elementos finitos para el estudio de la distribución de cargas sobre la fascia a lo largo del tiempo, el desarrollo de plantillas que reduzcan las cargas en este tejido y el análisis del efecto de la fasciotomía plantar completa.

Referencias

- [1] Caravaggi P, Pataky T, Günther M, Savage R, Crompton R. *Journal of Anatomy*, Volume 217, Number 3, September 2010, pp. 254-261 (ISBN: 00218782)
- [2] Cheng Y-N, K Chang C-W, Li C-T, Chang C-H, Lin C-F. *Foot & Ankle International*. Volume 36(I) 90-97 2014 (ISBN: 19447876).
- [3] Gefen A. *Foot & Ankle international* Volume 24, No 3/ March 2003 (ISBN: 19447876).
- [4] Gu Y and Li Z. *Mechanical Information of Plantar Fascia during Normal Gait*. 2012 International Conference on Medical Physics and Biomedical Engineering. *Physics Procedia* 33 (2012) 63 -66. (ISBN: 18753892).
- [5] Stecco C, Corradin M, Macchi V, Morra A, Porcionato A, Biz C and De Caro R. *Journal of Anatomy* Vol 223, pp. 6665-676, 2013. (ISBN: 00218782).
- [6] Topry JM. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, 306(17) pp.1940-1940, 2011 (ISBN: 10.1001/JAMA.306.7.1940).
- [7] A. Arangio G, Chen C, Kim W. *Clinical Orthopaedics and related research*. Vol 339, pp227-231, 1997.
- [8] Cheung J and Nigg B. *Sportorthopädie Sporttraumatologie* 23, pp 264-271, 2007. (ISBN: 10.1016/j.orhtr.2007.11.001)
- [9] Smith K, Ward E, Cocheba J, Patterson P and Philips R. *Journal of the American Podiatric Medical Association*. Vol 96 (6) pp 429-442, 2003. (ISBN: 10.7547/87507315-93-6-429).
- [10] Erdemir A, Hamel A, Fauth A, Piazza S and Sharkey N. *The Journal of Bone and Joint Surgery*. Vol 86-A (3) pp 546 – 552, 2004.
- [11] Página web de documentación de OpenSim (OpenSim documentation), <http://simtk-confluence.stanford.edu:8080/display/opensim/opensim+suport>.
- [12] Página oficial de OpenSim (OpenSim) <http://opensim.stanford.edu/work/index.html>.
- [13] Delp S, Loan J, Hoy M, Zajac F, Topp E and Rosen J. *Transaccions on Biomedical Engineering*. Vol 37 (8) pp 757-767, 1990.
- [14] Garner B and Pandy M. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineerin*. Vol 2, pp 35-42. ISBN : 90-5699-206-6.
- [15] Yamaguchi G and Zajac F. *Journal of Biomechanics*. Vol 22 (1) pp 1-10, 1989. (DOI: 10.1016/0021-9290(89)90179-6)
- [16] John C, Seth A, Schwartz M and Delp S. *Journal of Biomechanics*. Vol 45 (14) pp 2438-2443, 2012. (DOI: 10.1016/j.jbiomech.2012.06.037).
- [17] Inman V. *The joints of the ankle*. 1976. (ISBN: 0683043420)
- [18] Caravaggi P, Pataky T, Goulermas J, Savage R and Crompton R. *The Journal of Experimental Biology*. Vol 212, pp 2491-2499, 2009. (DOI: 10.1242/jeb.025767).
- [19] Kim W and Voloshin A. *Journal of Biomechanics*. Vol. 28 (9) pp 1025-1033, 1995. (DOI:0021-9290(94)00163-4).
- [20] Manter J. *The Anatomical Record*. Volume 80 (4) pp 397-520, 1941. (DOI: 10.1002/ar.1090800402).
- [21] Wright G. *Gait Analysis: theory and practice*. pp 66-67, 2006. (ISBN: 0 4431 0009 8)
- [22] Thompson K, Gallo C, Crentsil L and Lewandowski B. *Digital Astronaut Project Biomechanical Models*. NASA/TM-2015, pp 10 (DOI: 218852).

Numerical Methods Are Feasible for Assessing Surgical Techniques: Application to Astigmatic Keratotomy

M.A. Ariza-Gracia^{1,2}, A. Orillés^{1,3}, J. A. Cristóbal⁴, J.F. Rodríguez⁵, B. Calvo¹

¹ Aragón Institute of Engineering Research (i3A), University of Zaragoza, Zaragoza, Spain. mariza@unizar.es

² Institute for Surgical Technology and Bioengineering, University of Bern, Bern, Switzerland

³ Department of Animal Pathology, University of Zaragoza, Zaragoza, Spain. orilles@unizar.es

⁴ Department of Ophthalmology, University Hospital of Zaragoza, Zaragoza, Spain

⁵ LaBS, Department of Chemistry, Materials and Chemical Engineering, Politecnico di Milano, Milano, Italy

Abstract

The present study proposes an experimental-numerical protocol whose novelty relies on using both the inflation and the indentation experiments simultaneously to obtain a set of material parameters which accounts for both deformation modes of the cornea: the physiological (biaxial tension) and the non-physiological (bending). The experimental protocol characterizes the corneal geometry and the mechanical response of the cornea when subjected to the experimental tests using an animal model (New Zealand rabbit's cornea). The numerical protocol reproduces the experimental tests by means of an inverse finite element methodology to obtain the set of material properties that minimizes both mechanical responses at the same time. To validate the methodology, an Astigmatic Keratotomy refractive surgery is performed on 4 New Zealand rabbit corneas. The pre and post-surgical topographies of the anterior corneal surface were measured using a MODI topographer (CSO, Italy) to control the total change in astigmatism. Afterwards, the surgery is numerically reproduced to predict the overall change of the cornea. Results showed an acceptable numerical prediction, close to the average experimental correction, validating the material parameters obtained with the proposed protocol.

Motivation

Concern about visual healthcare is intensifying the efforts of a proper corneal characterization to assess on refractive surgeries, keratoconus stabilization, or predicting the evolution of a pathology. Current devices are intended to determine the intraocular pressure and to discern the corneal tissue quality by applying an external force over the cornea (i.e. tonometer). Contrarily to the physiological state of stress of the cornea (i.e. only biaxial tension due to the intraocular pressure), these loads are inducing non-physiological stresses (i.e. bending). Therefore, part of the tissue (posterior zone) works in tension and the remaining (anterior zone) works in compression. Nowadays, different experimental protocols are used to characterize the corneal tissue such as uniaxial, biaxial and inflation tests. However, calibrating a corneal material model by only using inflation data is suggested to be an ill-posed problem. To know more precisely the material behavior of the cornea could lead to computational tools that allow assessing the outcomes of common surgeries.

1. Introduction

The structure of the corneal tissue is made of water and collagen fibers embedded on an extracellular matrix, the material models conventionally associated with it consider a nearly incompressible anisotropic hyperelastic behavior [1]. Furthermore, the behavior of the extracellular matrix is generally uncoupled from the fibers. Usually, the strain energy functions related to the extracellular matrix ground substance are considered to be a linear function of the first and second invariant of the right deformation Cauchy-Green tensor, whereas those related to the fibers behavior are considered to be exponential, depending on the fibers alignment and on the stretch along the fiber direction [2]. Different experimental protocols have been used to characterize the corneal tissue but recently Kok et al. [3] pointed out that calibrating a corneal material model using inflation data only is an ill-posed problem since it does not completely define the problem. Therefore, different set of properties can be obtained when calibrating the corneal tissue parameters. A new experimental-numerical protocol is proposed to characterize the corneal tissue parameters. The novelty relies on using both the inflation experiment, which induce a biaxial state of stress, and the indentation experiments, which induces a bending state of stress, allowing to identify a set of material parameters which combines both deformation modes: the response to physiological loads (IOP), and the response to non-physiological loading due to the air-jet used by the diagnostic equipment (Figure 2.a). Afterwards, a numerical optimization protocol based on an inverse finite element methodology [4] is performed to identify a set of material properties that minimizes both mechanical responses simultaneously. To validate the model, an incisional refractive surgery has been performed on 4 New Zealand rabbits. The incisional refractive surgery is based on modifying the overall curvature of the cornea, passing from a more elliptic cornea (i.e. more astigmatism) to a more spherical cornea (i.e. less astigmatism). The pre and post-surgical topographies of the anterior corneal surface were measured using a MODI corneal topographer (CSO, Italy) to control the total change in astigmatism. Finally, the surgery is reproduced

numerically to predict the overall astigmatism of the cornea using only an average eyeball model and the set of material parameters yielded by the optimization. The entire pipeline of the methodology is depicted on the graphical abstract (Figure 1).

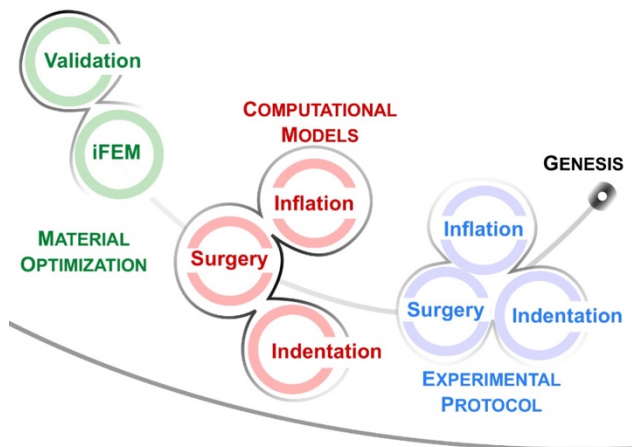


Figure 1. Pipeline of the methodology used for the corneal mechanical characterization from the concept (Genesis) to the Validation (Material Optimization), passing through the experimentation and numerical simulations

2. Material and Methods

2.1. Animals

Adult male New Zealand white rabbits obtained from the Animal Experimentation Service of the Research Support Services of the University of Zaragoza after approval by the Ethic Committee were used. All animals were healthy and free of clinically observable ocular disease, and showed no abnormalities in an ophthalmic examination consisting of the Schirmer tear test (Schirmer Tear Test Strips paper; Madhu Instruments, New Delhi, India), slit lamp biomicroscopy (Topcon SL-8Z; Topcon Corp., Barcelona, Spain), fluorescein staining (Fluorescein paper; HaagStreit Internacional, Liebefeld-Bern, Switzerland) and direct ophthalmoscopy (Heine beta 200; Heine Optotechnik GmbH & Co., Herrsching, Germany).

2.2. Geometrical and Mechanical Characterization: Inflation and Indentation tests

The most important parameters were measured: the corneal curvature (CC) using a corneal topographer (MODI 2, CSO, Italy), the corneal thickness (CT) recorded with a solid contact ultrasonic probe (DGH 500 Pachte™, DGH Technologies, USA) and the intraocular pressure (IOP) using an applanation tonometer (TonoPen XL, Medtronic, USA). All values were obtained in both eyes of 6 animals by the same researcher experienced in the use of both measuring devices.

Four rabbits were humanely euthanized with an overdose of intravenous sodium pentobarbital (150 mg/kg, Dolethal; Vetoquinol E.V.S.A., Spain). After eye enucleation, a circular area including cornea and a ring of sclera were cut off and placed in a metallic ring hermetically closed to avoid undesired pressure variations

(black dot in Figure 2.b-d). The samples were positioned in physiological conditions, with the epithelium externally oriented and the endothelium internally. The inflation test was controlled by a water column (blue dot) and a couple of cycles from 0 to 42,5 mmHg were carried out. To avoid incorrect measurements, a pressure probe (red dot) was set in a security loop for reading the pressure variations. The entire procedure was recorded by a synchronized stereo rig (green dot), composed by two Prosilica GT1290 cameras with a Sony ICX445 EXview HAD CCD sensor. Image sequences were black and white having a 1280x960 resolution at a 5 fps frame rate stored in raw format to avoid compression losses. Cameras were situated over the cornea so that both cameras were able to cover the upper surface of the eye. The parallax obtained with the setup was close to 90°, which is the optimal value that guarantees the highest accuracy of the measurement method. A planar pattern method similar to Bouquet [5] was applied. A small black dot was painted in the central point of the cornea, and used as fiducial marker to be tracked during the experiment (see in Figure 2.c). From the recorded video, a stereo pair of frames was selected for several levels of inner pressure. The digital photogrammetry PhotoModeler software (PhotoModeler, Eos Systems, Canada) was used to estimate the 3D coordinates of the central point. Based on the change of these coordinates, total displacement was calculated for each level of pressure measured. Finally, the mechanical inflation response of the cornea was represented as the apical rise measured in millimeters versus the variation of the IOP measured in mmHg. After the inflation test, the IO was set to 14.5 mmHg and the indentation was performed in each eye. Five cycles of loading (N) were applied on the corneal center using an indenter (3 mm diameter) under displacement control on an Instron 5548 Microtester (Illinois Tool Works, USA) with a 5 N full-scale load cell (grey dot). The applied displacement rate was 0.5 mm/s to a maximum displacement of 1mm. The mechanical indentation response was represented as the force opposing to the indentation measured in Newtons (N) versus the indentation displacement measured in millimeters (mm).

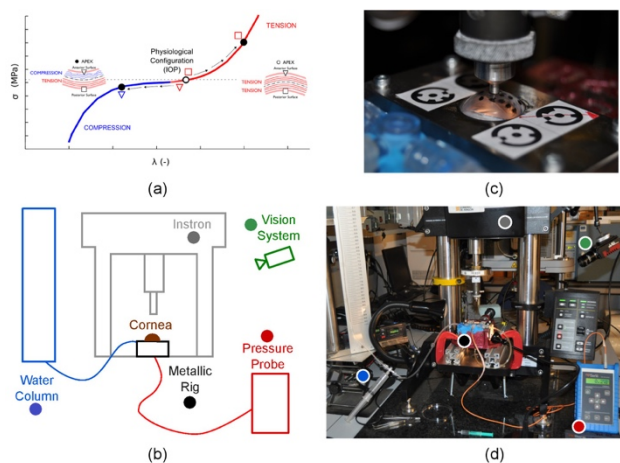


Figure 2. Experimental Protocol. (a) Corneal tissue behavior in physiological state (red) white dot) and in non-physiological bending state (blue); (b) Experimental Protocol Concept: Water Column for setting the IOP

(blue), Pressure Probe for controlling the IOP (red), Vision System for recording the apical rise during the pressurization (green), Instron testing machine for performing the indentation and recording the force response (grey) and metallic rig for fixing the biological sample (black); (c) Zoom of the biological sample fixed in the rig and marked for registering the displacement field with the cameras; (d) Complete experimental set up (each colored circle has its correspondence with the diagram presented in (b)).

2.3. Astigmatic Keratotomy (AK)

Six animals were intramuscularly anaesthetized using a mixture of medetomidine (0.14 mg/kg, Medeson; Uranovet, Spain), ketamine (20 mg/kg, Imalgene 1000; Merial Laboratorios, Spain) and butorphanol (0.3 mg/kg, Torbugesic; Fort Dodge Veterinaria, Spain). Topical anesthesia with tetracaine hydrochloride 0.1% and oxybuprocaine 0.4% eye drops (Colircusi Anestésico Doble; Alcon Cusi, Spain) was also instilled. All surgeries were performed by the same corneal specialist (J.A.C.) in both eyes of each animal. Two straight (transverse) astigmatic incisions (6 mm length) at a 7 mm optical zone were performed along the most curved meridian using a guarded diamond blade set at 80% corneal depth (320 microns of thickness). Postoperatively, all animals were treated with a topical corticosteroid and a broad-spectrum antibiotic twice a day for a week. The surgery follow-up was carried out 10 days after the surgery by measuring the corneal topography.

2.4. Material Model

The optimization protocol uses an inverse finite element iterative algorithm (i.e. iFEM), which seeks minimizing the difference between the experimental and numerical curves (i.e. the mechanical response curves of the inflation and indentation experiments) by changing the material properties of the proposed strain energy function: a Demiray model for the isotropic term and a Gasser--Holzapfel--Ogden [2] for the collagen fibers term

$$\psi = \psi_D + \psi_{GOH} + \frac{1}{D} \cdot \left(\frac{J_{el}^2 - 1}{2} - \ln(J_{el}) \right)$$

$$\psi_D = D_1 \cdot (e^{D_2 \cdot (\bar{I}_1 - 3)} - 1)$$

$$\psi_{GOH} = \frac{k_1}{2 \cdot k_2} \cdot \sum_{\alpha=1}^N (e^{k_2 \cdot (\bar{E}_\alpha)^2} - 1)$$

$$\bar{E}_\alpha \stackrel{\text{def}}{=} \kappa \cdot (\bar{I}_1 - 3) + (1 - 3\kappa)(\bar{I}_{4\alpha} - 1)$$

where D is the volumetric parameter, J_{el} is the elastic volume ratio, D_1 and D_2 are the parameters of the isotropic term, ψ_D , \bar{I}_1 is the first invariant of the modified right Cauchy-Green tensor \bar{C} , k_1 and k_2 are the parameters of the anisotropic term, ψ_{GOH} , \bar{I}_4 is the stretch along the collagen fiber direction ($\bar{\lambda}^2$), $\kappa \in [0, 1/3]$ is a fibre dispersion parameter, assumed as $\kappa = 0$.

2.5. Computational Finite Element Models: Indentation, Inflation and AK

The inflation and indentation simulation is as follows. Initially, the indenter is located far enough (i.e. 5 mm) from the ocular apex so as to avoid an accidental contact during the pressurization. First, the inflation procedure is simulated by applying an intraocular pressure of 42.5 mmHg. The evolution of the apical rise with pressure is recorded (i.e. Apical Rise vs Pressurization mechanical response). Afterwards, the indentation is simulated. An average 1/4 symmetric model is built assuming a spherical cornea and a scleral strip of 2 mm. It is composed of 26,320 8-node linear hybrid hexahedral elements (C3D8) and 30,537 nodes (91,611 degrees of freedom, D.O.F.), whereas the indenter is composed of 2,345 8-node linear hexahedral elements and 2,995 nodes (8,985 D.O.F.). Regarding the boundary conditions, a restrained displacement is imposed at the scleral rim to mimic the clamping of the sample on the rig, whereas a uniform pressure is imposed in the inner face to reproduce the intraocular pressure. Finally, a frictionless hard contact allowing the separation after the contact is used for simulating the contact between the indenter and the cornea. To computationally reproduce the AK surgery, an in-silico average model composed of 50,466 8-node linear hybrid hexahedral elements (C3D8) and 63,361 nodes (190,083 D.O.F.) is built. Concerning the boundary conditions, symmetry displacement condition along the optical axis is considered on the scleral equatorial plane (i.e. no displacement along the optical axis) and the intraocular pressure is simulated as a uniform load imposed on the inner surface of the eyeball. Finally, the surgical incisional procedure is simulated using a contact surface between both faces of the cut. Once the eye is pressurized, the contact is released to simulate the aperture of the corneal tissue. Finally, also the patient-specific geometry was tested so as to discern its importance on the results.

2.6. iFEM Optimization

A constrained optimization is set, giving only the upper and lower bounds of the material properties. The cost function to minimize is the Mean Squared Error (MSE) between the displacements in the numerical response and the experimental response of both experiments. When the numerical computations conclude, it is checked if the MSE is less than tolerance (i.e. 1e-6). If it is, the minimum is considered to be reached and the optimization algorithm finishes. Otherwise, the material is changed and a new iteration starts. The finite element computations have been carried out using Abaqus CAE. For the optimization process, the Matlab has been used.

2.7. Validation

To validate the model, it is used the change in Astigmatism. When the cornea is subjected to an incisional surgery, the main objective is to change the overall curvature, modifying the corneal shape from an ellipsoid to a sphere [6]. To verify the computational models, an in-house optical software (Ray Tracing + Zernike reconstruction [7]) is used.

3. Results and Discussion

The average computational corneal model was built with a uniform corneal thickness of 380 microns. This uniformity is related to the intrinsic characteristic of the rabbit's corneas. The curvature radius of the numerical model was set to 7.1 mm in both directions. The material parameters resulting from the optimization algorithm are $(D1, D2, k1, k2) = (0.224 \text{ kPa}, 25.000, 2.12 \text{ kPa}, 255.2)$ obtained in 84 iterations with a minimum squared error of $5e-3$. Besides, the inflation response of the cornea was found to be much more sensitive than the indentation when the material varied in the same range (see grey dots in *Figure 3*). The same variation of the material parameters causes a higher dispersion in the mechanical response for the inflation test than for the indentation test. However, both experimental curves, inflation (in red in *Figure 3*) and indentation curves (in blue in *Figure 3*) were fitted at the same time and with the same set of material parameters.

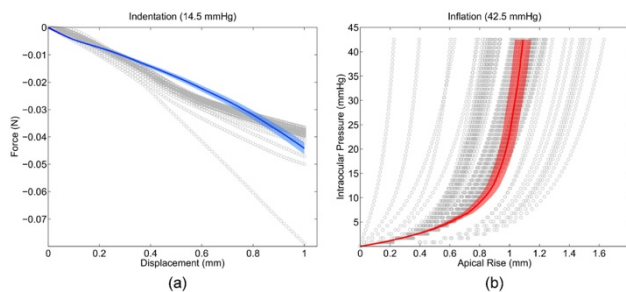


Figure 3. Experimental and Numerical Mechanical Response of the Cornea. (a) Indentation Corneal Response. (b) Inflation Corneal Response.

Regarding the optical validation, the average models were not able to reproduce correctly the overall changes on the corneal shape. However, for the patient-specific geometry, the experimental astigmatic correction changes from a cylinder of -2.6 D to -3.7 D, whereas the numerical model predicts a correction from -2.9 D to -3.1 D, being within the experimental range.

4. Conclusion

The optimization process is capable of numerically reproducing the experimental protocol and of being automatized in a straightforward manner so as to be a non-supervised process. The set of parameters obtained were able to reproduce the validation surgery properly. The mechanical response of the cornea to the inflation experiments has shown to be much more sensitive to the material perturbations than the response to the indentation results. The strong relation between the bending displacement and the thickness on laminae (i.e. cubic relation) [8] can help to explain this less important influence of the material on the mechanical response, being more important the intraocular pressure and the corneal thickness than the material itself. There are some limitations regarding the computational models such as that the viscoelastic effects were not taken into account. This is due to the speediness of the experiments, since in our experimental protocol, the velocity of the tests is under 30 second in all cases and therefore the viscoelastic

effects can be neglected [9]. Regarding the validation of the protocol, our material prediction has been capable of predicting the overall change in the astigmatic correction. However, the model is insensitive to the change of the astigmatic vector and is not able to properly capture the high order aberrations of the cornea. Finally, one of the most important limitations of this methodology is the difficulty of extending it to humans since the protocol needs of ex-vivo inflation experiments. The construction of an ex-vivo human database would be necessary to tackle this disadvantage.

Acknowledgements

Federica Boschetti (LaBS, Politecnico di Milano, Milano, Italy), Antonio Agudo (IRI-CSIC, Barcelona, Spain), Raquel Simón Allué (I3A, University of Zaragoza, Spain) for their different contributions to this research. The laboratory work was performed by the ICTS 'NANBIOSIS' specifically by the Tissue & Scaffold Characterization Unit (U13), of the CIBER in Bioengineering, Biomaterials & Nanomedicine (CIBER-BBN at the University of Zaragoza). The research leading to these results has received funding from the Swiss Government (Scholarships for Foreign Students), the Gobierno de Aragón (DGA contract), and the DPI2014-54981R Project.

References

- [1] Ariza-Gracia, M. A., Zurita, J., Piñero, D. P., Calvo, B., Rodríguez-Matas, J. F. Automatized Patient-Specific Methodology for Numerical Determination of Biomechanical Corneal Response. *Annals of Biomedical Engineering*, vol 44, 5, 2015, pp 1753–1772
- [2] Gasser, C., Ogden, W., Holzapfel, G. A Hyperelastic modelling of arterial layers with distributed collagen fiber orientations. *Journal of the Royal Society Interface*, vol 3, 6, 2006, pp 15-35
- [3] Kok S., Botha N., Inglis H. M. Calibrating Corneal Material Model Parameters Using Only Inflation Data: An Ill-posed Problem. *Numerical Methods in Biomedical Engineering*, vol 30, 1, pp 1460-1475
- [4] Roy A. S., Dupps W. J. Patient-specific modeling of corneal refractive surgery outcomes and inverse estimation of elastic property changes. *Journal of Biomechanical Engineering*, vol 133, 1,
- [5] Bouquet J. Camera Calibration Toolbox for Matlab, California Institute of Technology. http://www.vision.caltech.edu/bouquetj/calib_doc/
- [6] Navarro R., Palos F., Lanchares E., Calvo, B., Cristóbal, J.A. Lower- and higher-order aberrations predicted by an optomechanical model of arcuate keratotomy for astigmatism. *Journal of Cataract Refractive Surgery*, vol 35, 1, pp 158-165
- [7] Malacara D. Handbook of Optical Design. Marcel Dekker Inc., 2004 (ISBN: 0-8247-4613-9).
- [8] Timoshenko S. Theory of Plates and Shells. McGraw-Hill, 1959, (ISBN: 0-07-064779-8)
- [9] Simo J. C. On a fully three-dimensional finite-strain viscoelastic damage model: formulation and computational aspects. *Computer methods in applied mechanics and engineering*, vol 60, 2, pp 153-173

Sistemas de Ayuda a la Decisión en Medicina

Viernes 25 de Noviembre

Control de calidad automatizado de espectros de resonancia magnética de tumores cerebrales, mediante *Convex Non-negative matrix factorization*

Y. Hernández Villegas^{1,2}, V. Mocioiu^{2,1}, M. Julià-Sapó^{1,2}

¹ Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER-BBN), Cerdanyola del Vallès. España, yenihv.mtz@gmail.com

² Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universitat Autònoma de Barcelona (UAB), Cerdanyola del Vallès, 08193, España, {Victor.Mocioiu, Margarita.Julia}@uab.cat

Resumen

La espectroscopia de resonancia magnética (ERM) de protón de vóxel único in vivo, ha sido muy utilizada en los estudios clínicos de clasificación de tumores cerebrales y el seguimiento de pacientes que presentan masas cerebrales anormales. La presencia de artefactos en los espectros de resonancia magnética tiene una influencia negativa sobre la interpretación y subsiguiente análisis espectral, pudiendo reducir su valor clínico. El control automatizado de la calidad espectral ofrece ventajas por varias razones: una clasificación objetiva; rapidez en el procesamiento de grandes cantidades de datos de espectros de resonancia magnética; y evitar diagnósticos erróneos debido a la mala calidad de los espectros. En este trabajo utilizamos Convex NMF, una variante del método Non-negative matrix factorization (NMF) de descomposición espectral, para: 1. Descomponer los espectros de nuestra base de datos en fuentes representativas de los patrones espectrales. 2. Determinar si las fuentes extraídas coinciden con artefactos o espectros de tumores cerebrales y analizar su variabilidad. Para ello se utilizó una base de datos de 1180 espectros de pacientes con tumores cerebrales y otras masas anómalas, adquiridos con sistemas de 1.5 T a tiempo de eco corto (20 -32 ms). Se identificaron en las fuentes extraídas características similares a patrones de espectros de diferentes tipos y grados de tumores cerebrales, así como de artefactos. Se comprobó que a medida que aumentamos el número de fuentes extraídas, aumenta la variabilidad de las soluciones.

Palabras claves: Convex non-negative factorization, Control de calidad, Espectroscopia de resonancia magnética, Tumores cerebrales.

1. Motivación

Se ha estudiado ampliamente el potencial de la espectroscopia de resonancia magnética (ERM) para el diagnóstico clínico [1-4], pero existen menos estudios sobre el control de calidad automatizado de espectros [5-7]. Es posible medir automáticamente ciertos parámetros relacionados con la calidad espectral (relación señal ruido (RSR), eddy currents, mala supresión de agua, ecos espurios), aunque no es suficiente para describir la amplia gama de posibles artefactos [8] y el grado de su efecto negativo en un espectro [5].

En[1], cada espectro fue evaluado por un panel de espectroscopistas expertos que debían marcar si era de buena o mala calidad, así como el tipo de artefacto observado.

En estudios subsiguientes [5,6,9], se adoptó un enfoque similar: varios espectroscopistas expertos evaluaban el mismo espectro, tomándose el voto mayoritario como criterio para entrenar un sistema de reconocimiento de patrones basado en dichas categorizaciones. Este tipo de sistemas siempre estarán limitados por el grado de subjetividad de los expertos. Es por ello que sería deseable desarrollar un método automatizado para el control de calidad de espectros de resonancia magnética.

2. Introducción

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo [1]. Los tumores cerebrales tienen una incidencia relativamente baja con respecto a otras patologías cancerígenas más generalizadas. No obstante, la prognosis de algunos tumores cerebrales es muy pobre, lo que contribuye significativamente a su morbilidad. Normalmente se realiza un estudio de imágenes por resonancia magnética que nos ofrece información morfológica y permite determinar si hay una masa anormal en el cerebro. El tratamiento óptimo puede variar según el tipo de tumor y grado de malignidad y depende del examen histológico de una biopsia cerebral, siendo éste un método invasivo [1].

La espectroscopia de resonancia magnética (ERM) cerebral es un examen que permite el estudio del metabolismo cerebral *in vivo*.

La ERM registra a través de una señal discreta en el dominio de la frecuencia (espectro) la información sobre la cantidad relativa de los metabolitos de bajo peso molecular, lípidos y macromoléculas en el rango milimolar de concentración [10].

Los diferentes metabolitos cerebrales detectables en el cerebro son: N-Acetil aspartato (NAA), Creatina (Cre), Lípidos (Lip), Myo-inositol (ml) y Colina (Co), entre otros [1,4], que resuenan a frecuencias discretamente diferentes debido a su composición química frecuencias que se representan en el eje de las X del espectro, expresadas en partes por millón (ppm). En el eje de las Y se encuentra la intensidad de la señal de cada metabolito.

Los espectros de los principales tipos de tumores cerebrales pueden separarse en tres clases: meningiomas (meningiomas grados I y II de la OMS); tumores gliales de bajo grado (astrocitomas, oligodendrogliomas y

oligoastrocitomas grado II de la OMS) y tumores malignos de alto grado (glioblastomas y metástasis, que son de grado IV de la OMS) [4].

3. Materiales y Métodos

Los datos utilizados para el desarrollo de este trabajo son de ERM de vóxel único. Los espectros se adquirieron en el contexto de los proyectos eTUMOUR [11] e INTERPRET [1], en unidades de 1.5 T de diferentes fabricantes (GE, Philips y Siemens) y con secuencia de pulsos PRESS o STEAM, a tiempo de eco corto (20-32 ms), con un volumen de interés comprendido entre 1,5 x 1,5 x 1,5 cm³ (3,4 mL) y 2 x 2 x 2 cm³ (8 mL), dependiendo del tamaño del tumor. El procesamiento de los espectros se realizó según [1,4,15].

Se ha trabajado con 1180 casos de los cuales, 982 fueron considerados espectros de buena calidad y 198 de mala calidad por el panel de espectroscopistas expertos de los proyectos antedichos [1,11]. Los espectros se consideraron inaceptables de acuerdo con los siguientes criterios: pico de agua no suprimida con un ancho de banda > 8 Hz; relación señal ruido < 10 Hz o presencia de artefactos espectrales que fueran obvios (figura 1, espectros inferiores) [1,5]. Por lo general, dichos artefactos eran: adquisición cerca de la grasa subcutánea; grandes artefactos de línea de base o picos de origen sospechoso [5].

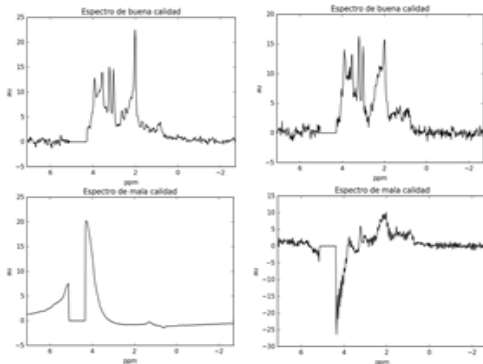


Figura 1. Ejemplos de espectros etiquetados como de buena calidad (los dos espectros superiores). Ejemplo de espectros etiquetados como de mala calidad (los dos espectros inferiores), los cuales muestran mala supresión de agua y baja RSR.

3.1. Non-negative matrix factorization (NMF)

NMF se aplica al análisis multidimensional de datos con el fin de reducir la dimensionalidad, descubrir patrones y ayudar en la interpretación de los datos [10].

NMF [12] factoriza una matriz **X** (matriz de datos de los espectros de dimensión **p x n**, donde **p** es la dimensión de los datos y **n** el número de muestras) en dos matrices: **F** (matriz de la Fuente de dimensión **p x k**, donde **k** es el número de fuentes y **k < p**) y **G** (matriz de mezcla o de codificación, de dimensión **n x k**, donde los valores de los coeficientes de una columna de esta matriz muestran los pesos asociados a un vector de la base, que son valores ≥ 0). El producto de estas dos matrices proporciona una buena aproximación a la matriz de datos original. En el

NMF básico las matrices son no negativas, es decir, contienen sólo valores positivos o cero, tales como:

$$X_+ \approx F_+ G_+^T \text{ donde, } X \in \mathbb{R}^{p \times n}, F \in \mathbb{R}^{p \times k}, G \in \mathbb{R}^{n \times k}$$

En la variante *Convex NMF* [12], una columna de **F** se limita a ser una combinación convexa de columnas de la matriz de datos **X**, tales como:

$$F = (f_1, \dots, f_k)$$

$$f_l = w_{1l}x_1 + \dots + w_{nl}x_n = Xw_l = XW$$

En esta factorización, cada columna de la matriz **F** es una suma ponderada de los puntos de datos. Esto implica que podemos pensar en **F** como centroides de grupo ponderados. La matriz **W** (matriz auxiliar de pesos adaptativos con dimensión **n x k**) determina a **F**.

De modo que, *Convex NMF* tiene la forma:

$$X_{\pm} \approx X_{\pm} W_+ G_+^T$$

La restricción que impone este método sobre los vectores columna que definen la matriz **F** mejora la interpretabilidad de los datos [10]. Al ser **F** una matriz de signos mixtos, no se requiere de un pre-procesamiento de los espectros con el fin de hacerlos no negativos.

Es relevante señalar en este punto que los espectros de resonancia magnética pueden presentar valores negativos bajo determinadas condiciones de adquisición. Por ejemplo, a tiempo de eco largo (140-145 ms).

Los algoritmos para esta variante de NMF (*Convex NMF*) se basan en algoritmos de actualización iterativos [13]. En cada iteración, el valor de **F** (matriz de las Fuentes) o **G** (matriz de mezcla o de codificación) se calcula multiplicando su valor actual por un factor (**K**), por lo que mediante la aplicación sucesiva de dicho algoritmo se aproxima el valor original [12]. Es decir, la regla de actualización garantiza la convergencia a una matriz de factorización localmente óptima.

El método de análisis matemático (*Convex NMF*) se define en la referencia [13]. Se implementó mediante el lenguaje de programación Python y se extrajeron desde cuatro hasta veinte fuentes. Cada extracción se repitió 10 veces debido a que *Convex NMF* tiende a converger en mínimos locales y entonces las fuentes extraídas pueden ser diferentes para las diferentes inicializaciones. Se calculó y representó la media y la desviación estándar, para estudiar la variabilidad de dichas fuentes.

4. Resultados

En lo sucesivo las fuentes se denominarán como S, siendo S1 la primera. En la extracción de cuatro fuentes (figura 2) S1 y S4 son compatibles con espectros de tumores de alto grado, caracterizados por el dominio de lípidos móviles (0.9, 1.3, 2.0 ppm). En el caso de S3, dicha fuente posee características que se asemejan a las de los espectros de tumores gliales de bajo grado, en los que existe un aumento en el pico de Colina, disminución de

Creatina y de N-acetil aspartato, además de un aumento en la intensidad del pico de Myo-inositol/Glicina.

La fuente S2 corresponde a un artefacto, debido a que hay mala supresión de agua, hecho que se observa en los picos residuales de agua alrededor de la región establecida como cero. Cabe resaltar la poca variabilidad de estas cuatro fuentes, con respecto al resto de las fuentes extraídas (figura 3).

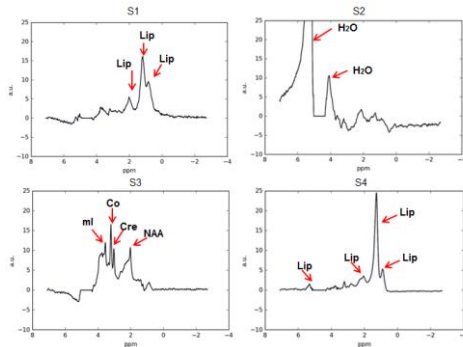


Figura 2. Representación de la media y STD (+/-) de las Fuentes (S) adquiridas para K=4. (Véase que: debido a la poca variabilidad de estas fuentes, no se aprecia la media de color azul, ni la zona de dispersión sombreada en gris). Los metabolitos marcados son: Lip (lípidos), Co (Colina), Cre (Creatina), NAA (N acetil aspartato), ml (Myo-inositol), H₂O (Agua)

Como se observa en la figura 3, las primeras cuatro columnas (S1, S2, S3, S4) corresponden a fuentes que tienen características similares a las extraídas para K= 4. Al extraer siete fuentes, cabe notar que hay un aumento de la variabilidad en algunas de las mismas.

Las fuentes ubicadas en la columna 5 de la figura 3 muestran características espectrales que coinciden con un espectro de cerebro normal, donde la resonancia que más intensa se observa es la del N-acetil aspartato. Cuantas más fuentes se extraen, más parecidas son las fuentes de la columna 5 a un espectro normal (obsérvese que la intensidad del pico de NAA aumenta con respecto al pico de Colina al aumentar el número de fuentes). Además, son fuentes interpretables, aunque por otra parte muestran intensidades negativas en otras frecuencias (ppm), consideradas un artefacto, dado a que estamos trabajando con espectros a tiempo de eco corto, ello se debe a una incompleta supresión del agua.

En la columna 6 de la figura 3, se observan fuentes que contienen mala supresión de agua e intensidades negativas y también gran variabilidad. Al desplazarlos a la columna número 7, se observan fuentes que son compatibles con gliomas de bajo grado. Ambas fuentes, tanto para K=7 como K=8 son inestables (obsérvese la desviación estándar). Ya en la columna 8 la fuente muestra una combinación de artefactos: mala supresión de agua y baja RSR.

5. Discusión

En el estudio presentado se extrajeron fuentes o patrones espectrales característicos del mayor conjunto existente de

datos de ERM de tumores cerebrales humanos. Los datos utilizados provienen de las bases de datos de dos proyectos Europeos multicéntricos, eTUMOUR [11] e INTERPRET [1].

Dado que la categorización por expertos está sujeta a un cierto grado de subjetividad, se procedió a un enfoque que difiere del empleado en estudios previos, en el que normalmente era supervisado.

En este estudio se realizó la extracción de patrones espectrales característicos mediante una técnica de reconocimiento de patrones no supervisada, *Convex NMF*. Dado que "a priori" no es posible saber cuántos patrones y/o artefactos existen en el conjunto de datos, se realizó un estudio descriptivo, extrayendo desde cuatro hasta veinte fuentes. Asimismo, cada experimento se replicó 10 veces, dado que *Convex NMF* puede dar diferentes soluciones, debido a que converge a mínimos locales.

Al observar las fuentes extraídas, desde K=4 hasta K=8 (figuras 2 y 3) se confirmó que son interpretables y comparables con espectros de tumores cerebrales (tumores de alto grado, meningiomas, tumores de bajo grado) o de cerebro normal tal como se describen en Tate [1]. Se corroboró la presencia de artefactos, entre otros, baja relación señal ruido, mala supresión de agua, ecos espurios, que se pueden comparar con la galería de artefactos descrita por Kreis [8].

Se obtuvo como resultado que las extracciones K=4 y K=5 (figura 3) de las veinte extracciones realizadas, son las más estables, debido a la poca variabilidad que se observa entre la media y la desviación estándar de las fuentes. Se obtiene un aumento de la variabilidad a medida que aumenta el número de fuentes y las fuentes que definen patrones espectrales propios de patologías conocidas son más estables con respecto a las que describen artefactos (figura 3).

En este trabajo se utilizaron 1180 espectros de RM y el método de análisis matemático, *Convex NMF* no supervisado, a diferencia del estudio de Wright [5], que solo utilizó 144 espectros y el método de análisis de componentes independientes. Se trabajó con espectros a TE corto, de vóxel simple y secuencia PRESS y STEAM, a diferencia de Menze [9] y Barros [6]. Los datos usados fueron multicéntricos, adquiridos con espectrómetros de diferentes marcas y generaciones de escáneres de resonancia magnética, a diferencia de Barros [6].

El resultado del estudio fue que *Convex NMF* permitió:

1. Descomponer los espectros de nuestra base de datos en fuentes representativas de los patrones espectrales.
2. Determinar si las fuentes extraídas coinciden con artefactos o espectros de tumores cerebrales, cerebro normal y analizar su variabilidad.
3. Determinar el más adecuado número de grupos **K**, que ofrezcan la menor variabilidad en las fuentes extraídas, para tener la mejor reconstrucción de los espectros.

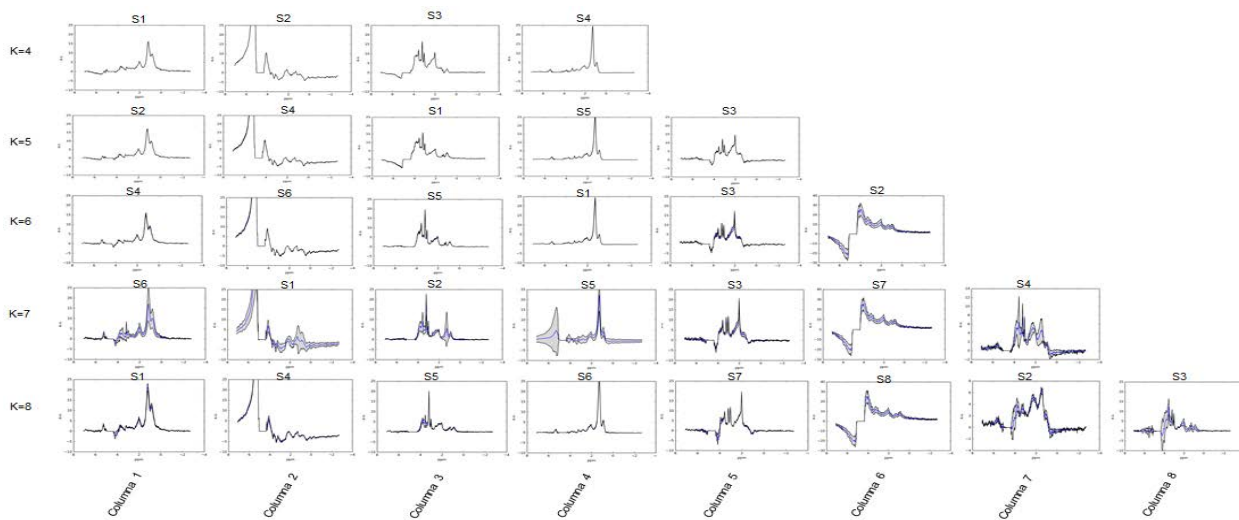


Figura 3. Media y desviación estándar (+/-) de las extracciones de diferente número de fuentes, desde $K=4$ hasta $K=8$. Cada fila corresponde a un número de fuentes diferentes obtenidas en cada extracción. Las columnas se organizaron en dependencia de la similitud de las fuentes.

6. Conclusiones

A través de la implementación automatizada del método de análisis matemático *Convex NMF* se identificaron fuentes con características semejantes a las de patrones espectrales de tumores cerebrales y artefactos, sin necesidad de un etiquetado previo. Los resultados obtenidos demuestran que *Convex NMF* es un método automatizable para el control de la calidad y puede ser utilizado como paso previo para la correcta clasificación de tumores cerebrales, por ejemplo, en un Sistema de Soporte a la Decisión.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Séptimo Programa Marco de la Unión Europea Programa (FP7 / 2007-2013) en virtud del acuerdo de subvención n^o ITN-GA-2012-316.679- TRANSACT. Este trabajo también fue financiado en parte por el CIBER-BBN, que es una iniciativa del VI Plan Nacional de I+D+i ,2008-2011, Acciones CIBER y financiado por el Instituto de Salud Carlos III con la ayuda de la Fondo Europeo de desarrollo Regional. VM y MJ también fueron financiados por MARESCAN (SAF2011-23870) y MOLIMAGLIO (SAF2014-52332 - R) del MINECO, España. YH fue financiada por las becas MAEC-AECID (2015/2016) y las becas de iniciación a la investigación CIBER-BBN(2016).

Referencias

[1] Tate AR. **Development of a decision support system for diagnosis and grading of brain tumours using in vivo magnetic resonance single voxel spectra.** NMR Biomed. 2006; 19: 411–434.

[2] A.Howe F. **H MR spectroscopy of brain tumours and masses.** NMR Biomed. 2003; 16:123-131

[3] Devos A. **Classification of brain tumours using short echo time ¹H MR spectra.** J Magn Reson. 2004; 170(1):164-75.

[4] Pérez-Ruiz A. **The INTERPRET decision-support system version 3.0 for evaluation of magnetic resonance**

spectroscopy data from human brain tumours and other abnormal brain masses. BMC Bioinformatics. 2010; 11:581.

[5] Wright AJ. **Automated quality control protocol for MR spectra of brain tumors.** Magn. Reson. Med. 2008; 59(6): 1274–1281.

[6] Barros NP. **Automatic quality control in clinical (1) H MRSI of brain cancer.** NMR Biomed. 2016 May; 29(5):563-75.

[7] Van der Graaf M. **MRS quality assessment in a multicentre study on MRS-based classification of brain tumours.** NMR Biomed. 2008 ;21(2):148-58.

[8] Kreis R. **Issues of spectral quality in clinical 1H-magnetic resonance spectroscopy and a gallery of artefacts.** NMR Biomed. 2004; 17: 361–381.

[9] Menze BH. **Mimicking the human expert: pattern recognition for an automated assessment of data quality in MR spectroscopic images.** Magn. Reson. Med. 2008; 59(6): 1457–1466.

[10] Ortega-Martorell S. **Non-negative matrix factorization methods for the spectral decomposition of MRS data from human brain tumours.** BMC Bioinformatics, 2012, 13: 38.

[11] Julià-Sapé M. **Strategies for annotation and curation of translational databases: the eTUMOUR project.** Database (Oxford). 2012; 2012: bas035.

[12] Ding C. **Convex and semi-nonnegative matrix factorizations.** IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell. 2010;32(1):45-55

[13] Ortega-Martorell S. **Convex Non-Negative Matrix Factorization for Brain Tumor delimitation from MRSI Data.** PLoS One. 2012; 7(10): e47824.

[14] Klose U. **In vivo proton spectroscopy in presence of eddy currents.** Magn. Reson. Med. 1990; 14: 26–30.

[15] Mocioiu V. **From raw data to data-analysis for magnetic resonance spectroscopy – the missing link: jMRUI2XML.** BMC Bioinformatics. 2015; 16: 378.

[16] INTERPRET, <http://azizu.uab.es/INTERPRET> and eTUMOUR, <http://www.etumour.net>, (accessed 2015/2016).

Modelo económico de simulación para la evaluación del tratamiento de la Hepatitis C crónica

S. López Mora¹, A. Jordán Alfonso¹, I. Barrachina Martínez¹, D. Vivas-Consuelo¹

¹ Centro de Investigación en Economía y Gestión de la Salud, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, salomo@etsii.upv.es, aujoral@gmail.com, ibarrach@ade.upv.es, dvivas@upvnet.upv.es

Resumen

Introducción: La prevalencia de la hepatitis C en España es del 2,5% y su infección crónica supone una gran carga económica para el sistema de salud pública. En el 2011 aparecen nuevos fármacos (Antivirales de Acción Directa (AAD)), que consiguen efectividades mayores al 90%. Debido a su elevado precio, estos fármacos únicamente se están administrando a los enfermos en fases avanzadas de la enfermedad. **Objetivos:** Realizar un análisis coste-utilidad del tratamiento con AAD en el que se compara el acceso a los ADD desde el inicio de la enfermedad frente al tratamiento actual en el que se administran en los últimos estadios de la enfermedad. **Metodología:** A partir de los datos sobre la evolución natural de la enfermedad, efectividad de los AAD, utilidades y costes asociados, se ha desarrollado un modelo de Markov y un Análisis de Sensibilidad Probabilístico (ASP) para estimar los Años de Vida Ajustados por Calidad (AVAC) y los costes asociados a cada una de las alternativas terapéuticas. **Resultados:** Se ha obtenido un Cociente Coste-Utilidad Incremental (CCUI) de 6.603,3€/AVAC. La calidad de vida es superior con el tratamiento desde fases iniciales que con el tratamiento actual en fases avanzadas, con un incremento medio de 0,812 AVAC por paciente. El coste es más elevado con la nueva alternativa que con el plan actual, incrementándose en 5.365,36€. **Conclusiones:** Considerando un umbral de disposición a pagar 20.000€/AVAC incremental la nueva alternativa es coste-efectiva.

1. Introducción

La hepatitis C (HC) es una enfermedad causada por la infección del virus de la hepatitis C (VHC) que afecta al hígado. Este virus presenta una gran variabilidad genética, habiéndose detectado hasta el momento 7 genotipos distintos [1]. El genotipo del virus no afecta al desarrollo de la enfermedad ni a su gravedad, pero sí que tiene gran importancia a la hora de que el médico se decante por un tratamiento u otro.

Según la Organización Mundial de la Salud entre 130 - 150 millones de personas están infectadas por el VHC [2]. La infección por el VHC puede ser aguda, eliminándose el virus en los 6 meses siguientes. En la mayor parte de los casos (80%) la infección aguda es asintomática [1]. Pero si la infección por el virus continúa, esta enfermedad se convierte en crónica, compuesta por 5 estados de fibrosis (F0-F4). En F0 aún hay ausencia de fibrosis, pero conforme avanza la enfermedad la fibrosis va aumentando hasta llegar al último estadio de la enfermedad (F4) que se corresponde con la cirrosis compensada (CD). Una vez se ha alcanzado la CD la evolución de la enfermedad es imprevisible, puede permanecer en este estado durante muchos años, descompensarse (CD) o evolucionar a un

carcinoma hepatocelular (CHC). Estas dos patologías son las principales causas del trasplante hepático [1, 3-5].

El principal problema de esta enfermedad es la baja efectividad de los tratamientos y las complicaciones derivadas de ellos hasta hace aproximadamente 5 años. En el 2011 empiezan a aparecer nuevos tratamientos con mayores efectividades, conocidos como Antivirales de Acción Directa (AAD) de primera generación. Es en el 2014 cuando aparecen tratamientos con una Respuesta Viral Sostenida (RVS) mayor al 90%, es decir, que hay una elevada tasa de pacientes que no tienen carga viral a los 6 meses de finalizar el tratamiento. Estos fármacos son los AAD de segunda generación, pero el coste de uno de estos tratamientos es muy elevado para ser costeado por el sistema de sanidad pública. Desde la salida al mercado de estos nuevos fármacos se han realizado diversos estudios para determinar el coste-efectividad de los nuevos medicamentos frente a los tratamientos anteriores.

Entre las ventajas de los AAD está la corta duración de los tratamientos (12-24 semanas). Una vez finalizado el tratamiento si éste ha sido efectivo el paciente estará libre del VHC, pero su estado de fibrosis no revertirá y en estos momentos, se desconoce cómo avanza la enfermedad libre de virus. Es por ello que es importante eliminar el virus en los estadios tempranos de la enfermedad.

1.1. Justificación del estudio

En 2014 se pudo ver en todos los medios de comunicación como los enfermos de Hepatitis C Crónica (HCC), sus familiares y sus médicos, se manifestaban constantemente para pedir ser tratados con los nuevos fármacos. El elevado precio de estos nuevos fármacos implica un alto coste para el sistema de sanidad pública, sobre todo en el caso de costear el tratamiento a todos los enfermos. Por tanto, se priorizó el tratamiento para aquellos enfermos que estaban en fases muy avanzadas de la enfermedad.

Hasta el momento hay algunos estudios económicos que evalúan el coste-efectividad de los nuevos tratamientos frente a los anteriores, teniendo en cuenta los genotipos, el estado de salud en el que se encuentran o la edad. Pero no hay ningún estudio que haya evaluado si dar el tratamiento a todos los enfermos, independientemente de su gravedad, es coste-efectivo frente a darlo sólo a los pacientes más graves, como se está haciendo actualmente.

El objetivo de este trabajo es desarrollar un modelo económico para determinar si proporcionar el tratamiento a todos los enfermos de HCC en España, es coste-efectivo frente a administrarlo en las fases finales de la enfermedad.

2. Metodología

2.1. Diseño del modelo

El método elegido para determinar los costes y resultados clínicos (Años de Vida Ganados (AVG), Años de Vida Ajustados por Calidad (AVACs)) de los tratamientos a comparar es la cadena de Markov. Este modelo es diseñado en Excel y representa la historia natural de la enfermedad. En este caso se han definido 10 estados de salud distintos por los que pueden ir pasando los pacientes de HCC según las probabilidades de transición anuales obtenidas de la bibliografía [3-6]. En este trabajo se han escogido las del estudio de Moshyk [6] (Tabla 1). En la Figura 1 se representan los estados de salud y mediante flechas se representan las posibles transiciones entre ellos.

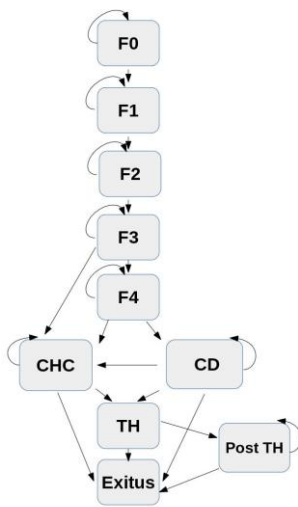


Figura 1. Estados de salud de la HCC y posibles transiciones entre ellos [3-6]

Transiciones	Historia Natural	Tratamiento desde F0	Tratamiento desde F3
F0 - F1	0,117	0,010	0,117
F1 - F2	0,085	0,010	0,085
F2 - F3	0,120	0,010	0,120
F3 - F4	0,116	0,010	0,010
F4 - CD	0,035	0,002	0,002
F4 - CHC	0,024	0,005	0,005
CHC - TH	0,030	0,030	0,030
CHC - EXITUS	0,411	0,411	0,411
TH - EXITUS	0,142	0,142	0,142
POST TH - EXITUS	0,340	0,034	0,034
F3 - CHC	0,000	0,005	0,005
CD - TH	0,030	0,030	0,030
CD - CHC	0,024	0,024	0,024
CD - EXITUS	0,216	0,216	0,216
F4 RVS - CD	0,002	0,002	0,002
F4 RVS - CHC	0,005	0,005	0,005

Tabla 1. Probabilidades de transición

2.2. Alternativas terapéuticas

En el presente estudio las alternativas terapéuticas a comparar son dos: iniciar el tratamiento con AAD cuando

los pacientes ya se encuentran en el grado de fibrosis F3 frente a adelantar el tratamiento al inicio de la enfermedad.

El fármaco que se va a administrar a los pacientes de la cohorte es el Harvoni®, cuyos principios activos son el sofosbuvir junto al ledipasvir. Se utiliza este medicamento porque es uno de los más administrados por los médicos especialistas para los enfermos de HCC en España.

Según la AEM (Agencia Europea del Medicamento), la efectividad del Harvoni® es de entre 94-99% [7], mientras que en otro estudio se ha determinado una efectividad de entre el 97-100% para los pacientes con genotipo 1 [8]. En este estudio se ha considerado una efectividad del fármaco del 99%.

La efectividad del fármaco se corresponde con la probabilidad de permanecer en el mismo estado de fibrosis en el que se ha proporcionado el tratamiento. Por tanto, a partir del valor de la efectividad se ajustan las probabilidades obtenidas de la literatura para obtener las probabilidades de transición asociadas a cada tratamiento.

2.3. Utilidades

La utilidad representa la calidad de vida que el paciente percibe que tiene en cada estado de salud, correspondiendo la utilidad máxima de 1 a los pacientes sanos y la utilidad de 0 al estado de muerte.

Para el presente trabajo se han utilizado las utilidades proporcionadas por Buti [3] por ser las utilizadas en un estudio reciente realizado en España (Tabla 2). Además, éstas proporcionan variabilidad entre los estados representados, así la calidad de vida de los enfermos crónicos por HC está reflejada de forma más fiel a la realidad.

Para el estado de salud F0, ya que la fuente bibliográfica elegida no proporciona su utilidad, se ha decidido mantener la misma utilidad que en el estado F1. Esta consideración se ha realizado basándonos en el resto de estudios, en los que la utilidad en F0 y F1 se ha considerado la misma. Por tanto, en este estudio la utilidad en F0 se ha definido como 0,77.

2.4. Costes

Los costes en cada estado de salud representan los costes de las revisiones periódicas que se realizan a los pacientes con esta enfermedad, más los posibles costes hospitalarios de los enfermos que se encuentran en estados de salud más avanzados. En la Tabla 2 se indican los costes para cada estado de salud encontrados en un artículo que refleja cuáles son estos costes en España [3]. Este artículo no proporciona el coste de F0 y se ha considerado que es de 268,61€ al igual que en F1 porque en estos dos estados se realiza el mismo seguimiento médico.

Por otra parte se tiene el coste del tratamiento que se va a proporcionar, que en este caso es el del fármaco Harvoni®. Aunque no hay datos oficiales que indiquen el coste de este medicamento en España, se puede estimar que el precio por un tratamiento de 12-24 semanas es de 14.826€.

Estados	Utilidades	Costes
F0	0,77	268,61 €
F1	0,77	268,61 €
F2	0,66	310,78 €
F3	0,55	310,78 €
F4	0,55	565,41 €
CD	0,45	2.302,45 €
CHC	0,45	8.770,01 €
TH	0,45	123.686,23 €
POST TH AÑO 1	0,67	36.152,96 €
POST TH AÑO 2	0,67	18.076,47 €
Tratamiento con Harvoni		14.826 €

Tabla 2. Utilidades y costes anuales de los estados de salud y coste por tratamiento con Harvoni

2.5. Población de estudio

La distribución inicial de pacientes en la simulación vendrá dada por la distribución de enfermos de HC en el Hospital Arnau de Vilanova, perteneciente al departamento de salud 7 del mapa sanitario de la Comunidad Valenciana. La base de datos de los enfermos tratados en este hospital muestra que la proporción de pacientes en los distintos estados de salud es la que se indica en la Tabla 3.

Para realizar la simulación se considerará una cohorte de 1 paciente. En el primer ciclo de la simulación la cohorte se distribuye según los porcentajes de la tabla anterior. A partir del segundo ciclo la cohorte se irá distribuyendo por los distintos estados de salud según las probabilidades de transición que se han definido en la Tabla 1.

Estados	F0	F1	F2	F3	F4
	76 (16,85%)	174 (38,58%)	36 (7,98%)	61 (13,53%)	104 (23,06%)

Tabla 3. Número de pacientes y porcentaje inicial en cada estado según datos H. Arnau de Vilanova

Los pacientes de la cohorte se consideran enfermos infectados por el VHC con genotipo 1. En este grupo se engloban tanto los pacientes infectados por el genotipo 1a como el 1b, que conforman el mayor porcentaje de enfermos en España.

2.6. Modelo de Markov

La simulación con el modelo de Markov estima que los resultados de salud en términos de supervivencia media por paciente, medidos como AVG. Estos resultados se ajustan por calidad de vida mediante las utilidades para obtener los AVACs. Además, los AVG también se multiplican por los costes para obtener el coste medio por paciente en cada alternativa.

Realizada la simulación se aplica una tasa de descuento a los cálculos para ajustar los resultados en función del tiempo, ya que el momento en el que se producen los costes no es el mismo que en el que se obtienen los beneficios. La tasa de descuento anual que se aplica en el presente trabajo

es del 3%, que es la tasa que se debe aplicar en las evaluaciones económicas de tecnología sanitaria en España [9].

Para poder comparar las distintas opciones terapéuticas incluidas en el modelo de Markov se utiliza el cociente coste/utilidad incremental (CCUI). Con este cociente se puede determinar el incremento del coste para obtener un AVAC adicional cuando se aplica el tratamiento que mejores resultados aporta para los pacientes y que tiene un mayor coste, en comparación con la alternativa que tiene unos costes más bajos pero a costa de tener menores beneficios para los enfermos. Así se puede determinar si el coste que supone obtener un AVAC adicional, con la opción más beneficiosa y más costosa, se encuentra por encima o por debajo del umbral establecido para considerar una tecnología coste-efectiva.

$$CCUI = \frac{Coste_{f.iniciales} - Coste_{f.finales}}{AVAC_{f.iniciales} - AVAC_{f.finales}}$$

2.7. Análisis de sensibilidad

En el presente estudio se utiliza el Análisis de Sensibilidad Probabilístico (ASP) para reducir la incertidumbre del análisis coste-utilidad realizado. Se realizan 3.000 iteraciones empleando la simulación de Monte Carlo y en cada una de ellas las variables cambian su valor siguiendo una distribución estadística de probabilidad determinada, excepto el horizonte temporal y la tasa de descuento que permanecerán como valores estables. Las probabilidades de transición y las utilidades se ajustarán por una distribución beta, ya que son valores comprendidos entre 0-1 [10]. Mientras que los costes se ajustan a una distribución lognormal, que se caracteriza por tener un máximo cerca del origen y una cola muy larga hacia la derecha, así se representa que la mayor parte de los pacientes tienen costes bajos, y solo una pequeña proporción llega a costes muy elevados [10].

3. Resultados

La simulación realizada con un horizonte temporal de 25 años concluye que cuando se administra el tratamiento desde el primer estado del índice Metavir (F0) se obtienen 0,016 AVG adicionales por paciente frente al comparador, que es iniciar el tratamiento en el estado de fibrosis F3.

En cuanto a la supervivencia ajustada por calidad de vida, la alternativa de administrar el Harvoni® desde el inicio de la enfermedad aporta 12,062 AVAC frente a los 11,250 AVAC que proporciona dar el tratamiento en las fases finales de la enfermedad. Por tanto, hay una diferencia favorable hacia la alternativa de dar el tratamiento desde los inicios de la infección crónica por el VHC de 0,812 AVAC.

Los costes asociados a iniciar el tratamiento en el estado de fibrosis F0 supone un coste asociado de 21.628,52€ por paciente respecto al tratamiento desde el grado de fibrosis F3 que conlleva 16.263,16€, lo que establece una diferencia de 5.365,36€ si el tratamiento comienza antes.

Teniendo en cuenta los resultados en costes y en AVAC obtenidos, el CCUI de tratar a los pacientes desde F0 frente

a tratarlos a partir de F3 ha resultado ser de 6.608,03€/AVAC (Tabla 4).

	Costes (€)	AVAC	Δ Costes (€)	Δ AVAC	CCUI (€/AVAC)
F3	16.263,2	11,3			
F0	21.628,5	12,1	5.365,4	0,8	6.608,3

Tabla 4. Resultados análisis coste-utilidad

Si se considera un umbral de eficiencia de 20.000€/AVAC adicional y se representa en el plano de coste-utilidad (Figura 2), se puede considerar que la administración del fármaco desde los estados iniciales de la enfermedad es una estrategia coste-útil frente a proporcionar el tratamiento a partir del grado de fibrosis F3, para el tratamiento de la infección por VHC crónica.

Los resultados del análisis de sensibilidad realizado confirman la robustez del modelo. En las 3.000 simulaciones realizadas todos los valores del CCUI obtenidos han sido inferiores a 20.000€/AVAC. De manera que si se considera este umbral de aceptabilidad, la administración de la terapia con Harvoni® desde F0 es una estrategia eficiente.

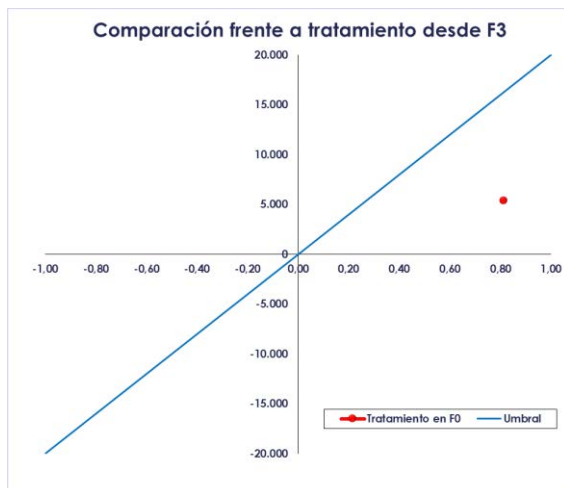


Figura 2. Representación del CCUI en el plano coste-utilidad con un umbral de 20.000€/AVAC

4. Conclusiones

El análisis económico realizado demuestra que es más coste efectivo que los pacientes comiencen con el tratamiento en el estado inicial de la evolución de la enfermedad en los últimos estadios de la enfermedad.

El modelo de Markov desarrollado para realizar el análisis de coste-utilidad muestra que administrar el tratamiento desde el inicio de la enfermedad conlleva un aumento de AVG (0,016 AVG) y una mejora de la calidad de vida, de 0,812 AVAC. Mientras que el coste es superior con la nueva estrategia terapéutica planteada, con una diferencia de 5.365,36€.

El CCUI obtenido se sitúa en el cuadrante I, lo que indica que la terapia alternativa tiene un mayor coste pero también una mayor utilidad que el comparador.

Considerándose un umbral de aceptabilidad de 20.000€/AVAC se puede concluir que la nueva alternativa

de tratamiento propuesta es mejor desde el punto de vista de coste-utilidad.

Del mismo modo el ASP confirma la mejor coste utilidad de la alternativa propuesta puesto que el 97,1% de los tratamientos se encuentra por debajo del umbral de los 6.000€/AVAC ganado, y no hay ningún tratamiento que haya superado el umbral de los 9.000€/AVAC adicional.

Otras consideraciones a tener en cuenta son la evolución la enfermedad libre de virus una vez alcanzado el estado de F4, ya que aún está por determinar, y las opciones de rebaja del precio de los AAD por tramos de consumo, lo que permitiría que tratar a más pacientes supusiera un menor coste de los tratamientos.

Agradecimientos

A la Dra. Remedios Giner, especialista en gastroenterología y hepatología por su generosidad, amabilidad y asesoramiento clínico.

Referencias

- [1] Página web del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. <http://www.msssi.gob.es/> (Consultada: Abril 2016)
- [2] Página web de la Organización Mundial de la Salud (OMS). <http://www.who.int/es/> (Consultada: Abril 2016)
- [3] Buti, M., Gros, B., Oyaguez, I., Andrade, R. J., Serra, M. A., Turnes, J., & Casado, M. A.. Cost-utility analysis of triple therapy with telaprevir in treatment-naive hepatitis C patients. *Farmacia Hospitalaria*, vol 38, sup 5, 2014, pp 418–429 (ISSN: 1130-6343)
- [4] Cure, S., Guerra, I., & Dusheiko, G.. Cost-effectiveness of sofosbuvir for the treatment of chronic hepatitis C-infected patients. *Journal of Viral Hepatitis*, vol 22, sup 11, 2015, pp 882–889. (ISSN: 1365-2893)
- [5] McEwan, P., Kim, R., & Yuan, Y.. Assessing the cost utility of response-guided therapy in patients with chronic hepatitis C genotype 1 in the UK using the MONARCH model. *Applied Health Economics and Health Policy*, vol 11, sup 1, 2013, pp 53–63. (ISSN: 1175-5652)
- [6] Moshyk, A., Martel, M. J., Tahami Monfared, A. A., & Goeree, R.. Cost-effectiveness of daclatasvir plus sofosbuvir-based regimen for treatment of hepatitis C virus genotype 3 infection in Canada. *Journal Of Medical Economics*, vol 19, sup 2, 2016, pp 191-202 (ISSN: 1369-6998)
- [7] Página web de la Agencia Europea del Medicamento. <http://www.ema.europa.eu/ema/> (Consultada: Abril 2016)
- [8] Esteban, R., Avendaño Solá, C., Berenguer, M., Buti, M., & Calleja, J. L.. Documento del II Consenso español sobre tratamiento de la hepatitis C. *Aeeh*, Abril 2015, pp 1–41.
- [9] López Bastida, J., Oliva, J., Antoñanzas, F., García-Altés, A., Gisbert, R., Mar, J., & Puig-Junoy, J.. Propuesta de guía para la evaluación económica aplicada a las tecnologías sanitarias. *Gaceta Sanitaria*, vol 24, sup 2, 2010, pp 154–170. (ISSN: 0213-9111)
- [10] Mar, J., Antoñanzas, F., Pradas, R., & Arrospeide, A. Los modelos de Markov probabilísticos en la evaluación económica de tecnologías sanitarias: Una guía práctica. *Gaceta Sanitaria*, vol 24, sup 3, 2010, pp 209–214. (ISSN: 0213-9111)

Mejora en la detección del cáncer de próstata usando biomarcadores de modelos farmacocinéticos de segunda generación y métodos estadísticos de variables latentes

E. Aguado Sarrió¹, J. M. Prats Montalbán¹, R. Sanz Requena^{2,3,4}, L. Martí Bonmatí^{3,4}, A. Ferrer¹

¹ Grupo de Ingeniería Estadística Multivariante (GIEM), Universidad Politécnica de Valencia (UPV), Valencia, España, eragsar@etsii.upv.es jopraron@eio.upv.es

² Ingeniería Biomédica, Hospital Quirónsalud Valencia, Valencia, España.

³ Departamento de Radiología, Hospital Quirónsalud Valencia, Valencia, España

⁴ Grupo de Investigación de Imagen Biomédica (GIBI230), Hospital Universitario y Politécnico la Fe, Valencia, España.

Resumen

El presente trabajo pretende comprobar si los biomarcadores obtenidos a partir de métodos estadísticos de variables latentes como resolución multivariante de curvas-mínimos cuadrados parciales (MCR-ALS) junto con los biomarcadores de los modelos farmacocinéticos de segunda generación permiten mejorar la detección del cáncer de próstata mediante el uso de métodos estadísticos de clasificación: análisis discriminante mediante mínimos cuadrados parciales (PLS-DA). El objetivo del trabajo consiste en mejorar la capacidad de clasificación de tejidos mediante la selección de los biomarcadores más interesantes en términos de predicción. Empleando el mejor modelo PLS-DA obtenido, se pueden clasificar tejidos con un porcentaje de falsos negativos del 13,4% y de falsos positivos del 7,44% siendo, la mayor parte de las veces, los biomarcadores obtenidos a partir de MCR-ALS estadísticamente significativos en la selección de variables.

1. Introducción

La angiogénesis y neovascularización son procesos biológicos asociados a tejidos con incrementos en la demanda de oxígeno y nutrientes. Por lo tanto, están muy presentes en regiones patológicas como los tumores. El incremento en la perfusión sanguínea puede ser estudiado mediante *dynamic contrast enhanced magnetic resonance imaging* (DCE-MRI) [1]. Para obtener medidas cuantitativas, es necesario caracterizar las curvas de intensidad frente a tiempo asociadas a cada píxel de la imagen. En lo que respecta a las diferentes aproximaciones propuestas para hacer esta evaluación, los modelos matemáticos farmacocinéticos se han convertido recientemente en la forma más popular para hacer la cuantificación debido a su habilidad de proporcionar biomarcadores clínicamente orientados en el análisis de tumores.

Se han propuesto modelos bicompartimentales para el modelado del tejido prostático compuesto por los espacios intravascular y extravascular extracelular (EES). El modelo más simple permite la obtención de las constantes de transferencia (K^{trans}) y lavado (k_{ep}), relacionadas entre ellas a través del espacio extravascular (v_e). Este modelo y su versión mejorada son conocidos como el modelo de 'Tofts' y 'Tofts extendido' respectivamente [2]. Estos grupos de modelos pueden ser clasificados como modelos

farmacocinéticos 'clásicos' o 'primera generación' y han sido ampliamente aplicados en oncología para el análisis de perfusión hasta la actualidad. Sin embargo, el desarrollo y la evolución del hardware en imagen de RM ha permitido una mejora en la calidad de la imagen y la resolución del píxel que saca a la luz las limitaciones de los modelos 'clásicos'. Esto ha posibilitado el desarrollo de nuevas aproximaciones diseñadas para superar dichas limitaciones, con el fin de obtener información adicional más precisa acerca de los tejidos. Los modelos más importantes son *two compartment exchange model* (2CXM), *Adiabatic approximation of tissue-homogeneity model* (AATH) and *distributed-parameter model* (DP). Estas nuevas aproximaciones son conocidas como modelos de 'segunda generación' [3], un esquema de los mismos se muestra en la **figura 1**.

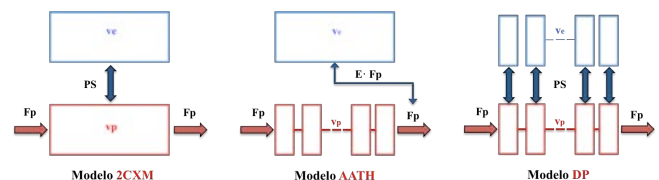


Figura 1. Esquema de los modelos de segunda generación, (izquierda a derecha : 2CXM, AATH, DP) ordenados según complejidad teniendo en cuenta el número de divisiones compartimentales.

La principal ventaja de estos modelos es la posibilidad de medir el flujo de perfusión (Fp) separado de la capilaridad en forma de producto del área permeabilidad-superficie (PS), ya que en los modelos clásicos ambos parámetros se estiman como combinación de uno solo (K^{trans}). La separación de ambos fenómenos permite entender mejor el comportamiento tumoral con en el proceso de perfusión.

Una característica de los modelos farmacocinéticos es la falta de conocimiento *a priori* acerca del entorno del tejido vascular, conduciendo a una serie de asunciones que condicionan el uso de diferentes aproximaciones [3]. Una posible forma de buscar dinámicas con sentido fisiológico es mediante la aplicación de modelos estadísticos de proyección multivariante a las secuencias DCE-MRI. En análisis de imagen, esta aplicación se la conoce como análisis multivariante de imágenes (MIA)

[4,5], normalmente basada en análisis de componentes principales (PCA) [6]. Una limitación asociada a la aplicación de PCA en análisis de imágenes DCE-MRI es que los patrones dinámicos estimados son ortogonales por diseño. Sin embargo, las dinámicas de perfusión no tienen por qué ser ortogonales, siendo ésta una importante limitación de esta aproximación. Existen otros modelos quimiométricos, como la resolución multivariante de curvas (MCR) [7,8], que no imponen esa restricción. Estos modelos han sido aplicados con éxito en secuencias de perfusión DCE-MRI para la obtención de comportamientos dinámicos con sentido fisiológico [9].

El presente trabajo pretende comprobar si los biomarcadores obtenidos a partir de MCR junto con los biomarcadores de los modelos farmacocinéticos permiten mejorar la clasificación de tejidos en la próstata mediante el uso de métodos de clasificación/predicción basados en estructuras latentes: análisis discriminante mediante mínimos cuadrados parciales (PLS-DA) [10]. El objetivo del trabajo consiste en la comparación de modelos para seleccionar el mejor en términos de predicción junto con la selección de los biomarcadores más influyentes.

2. Materiales y métodos

La base de datos esta formada por 30 casos confirmados histológicamente de tumores en la zona periférica de la próstata. Se dispone de secuencias DCE-MRI en todos los casos, asegurando que contienen toda la próstata (12 cortes), empleando una resolución dentro de plano de 192·192 píxeles y 47 dinámicos (tiempo de adquisición de 5 minutos). Los datos se han recogido en una matriz **D** (192·192·47) para cada corte. Todas las imágenes han sido anonimizadas antes del post-procesado.

2.1. Cálculo de los modelos farmacocinéticos

En primer lugar, se evalúa la función de entrada arterial (AIF) con el objetivo de estimar el comportamiento dinámico arterial. Esta función puede ser calculada empleando, por ejemplo, análisis de componentes principales (PCA) y seleccionando los píxeles que tengan mayor relación con el comportamiento arterial [11]. Una vez la AIF se ha calculado para cada paciente individualmente, la secuencia de perfusión se analiza píxel-a-píxel aplicando las diferentes aproximaciones farmacocinéticas. Este proceso consiste en la determinación de un grupo de parámetros empleando algoritmos de optimización no-lineal. El valor de los biomarcadores se obtiene minimizando la diferencia entre la dinámica del píxel original y el producto de convolución $R(t)$ para cada modelo. Se debe tener en cuenta que la optimización no-lineal solo permite obtener un grupo de soluciones empleando diferentes puntos de inicio y seleccionando el mejor resultado con el criterio de la función objetivo, en este caso minimizar la suma de cuadrados residuales (RSS). Empleando esta técnica, la probabilidad de encontrar el óptimo global es mayor a medida que aumenta el número de puntos de inicio, testeando un número relativamente alto de iniciaciones o "semillas" en el espacio de las variables.

En este trabajo, los radiólogos han definido 2 tipos diferentes de ROIs en la próstata, considerando localización mediante biopsia y búsquedas en imagen:

- DL: *Dominant Lesion*, asociada a tejido carcinógeno en la zona periférica de la próstata.
- HP: *Healthy Peripheral*, asociada a tejido sano en la zona periférica de la próstata.

Además, se asume que el comportamiento de una región definida como sana en un caso carcinógeno se comporta exactamente de la misma manera que en pacientes completamente sanos [12].

Finalmente, se obtienen mapas de distribución de biomarcadores para cada caso, conteniendo únicamente los píxeles definidos como HP o DL.

A partir de los modelos MCR se obtienen 2 biomarcadores relacionados con las dinámicas asociadas a los comportamientos dinámicos fisiológicos de los tejidos [9]. Se denominan dinámica de tejido normal (tipo NT) y tejido vascular (tipo VT), junto con la suma de cuadrados residual (RSS).

2.2. Selección de variables empleando doble validación cruzada (2CV) mediante PLS-DA

El siguiente paso es la aplicación de los métodos de PLS [13] para clasificación de tejidos. En primer lugar, se deben construir las matrices de entrada (**X**, **Y**) al modelo PLS-DA [10] utilizando los mapas de distribución de biomarcadores obtenidos en el paso previo. La matriz **X** se construye colocando todos los píxeles seleccionados en filas con los valores de los diferentes biomarcadores considerados en columnas. Para los mismos píxeles, la matriz **Y** se define a partir de dos variables dicotómicas (0-1). La primera columna se corresponde con la variable "DL" siguiendo el criterio: si el píxel pertenece a la región "DL" se define como 1 y como 0 si pertenece a la región "HP". Entonces, la segunda columna se construye contrariamente a la primera.

Una vez las matrices de entrada han sido definidas, se propone un modelo de clasificación PLS-DA que maximiza la covarianza entre los dos espacios latentes. El método empleado en este trabajo es la doble validación cruzada (2CV) con selección de variables [14,15]. Este método consiste en dividir los 30 casos del conjunto de datos en tres grupos aleatorizados de 10 pacientes (entrenamiento, validación y test). De esta manera, los píxeles que pertenecen a un caso específico deben ser incluidos en el mismo grupo para cada iteración. El proceso que se describe a continuación se repite 1500 veces con el objetivo de obtener resultados más consistentes. El primero de los conjuntos, entrenamiento, se emplea en la construcción del modelo, evaluando un número creciente de variables latentes. Entonces, para cada número de variables latentes, empleando el modelo ajustado en el paso anterior, se calcula un índice de evaluación conocido como *f-score* utilizando el conjunto de validación. El *f-score* es un índice calculado a partir del porcentaje de verdaderos negativos TN, verdaderos positivos TP, falsos negativos FN, y falsos positivos FP obtenidos mediante el modelo de clasificación. Este

parámetro toma valores entre (0-1) y alcanza su valor máximo cuando el porcentaje de FN y FP son cero. Cuando más cercano a 1 sea el *f-score*, mejor será el modelo en términos de predicción.

El *f-score* se almacena en cada iteración, y las variables originales (biomarcadores) que no son estadísticamente significativas (empleando $\alpha=0,05$) son eliminadas de la matriz **X**. El proceso se repite con la nueva matriz **X** obteniendo un nuevo valor de *f-score*. Si el nuevo *f-score* es mayor que el anterior, el modelo es mejor y es considerado como el mejor modelo hasta el momento. Si es menor, el proceso iterativo termina y el mejor modelo es el considerado en el paso anterior. Al final, los modelos son evaluados mediante un set externo (conjunto de test), obteniendo un valor de *f-score* final. Este proceso se repite empleando un diferente número de variables latentes, y por lo tanto, el mejor modelo será el que consiga obtener el mayor valor de *f-score* final a partir de la mejor selección de variables en cada variable latente.

Al final del proceso iterativo, los resultados contienen el valor del *f-score* final, la selección de variables (biomarcadores que quedan en el modelo), el porcentaje de TN, TP, FN, FP y el número óptimo de variables latentes para cada iteración del proceso (1500 iteraciones por modelo PLS-DA).

3. Resultados

Con la intención de hacer una comparativa entre aproximaciones, las columnas de la matriz **X** pueden variar dependiendo del número de biomarcadores que se consideren a partir de los modelos seleccionados. Los análisis se han desarrollado de manera secuencial según los siguientes puntos, (los resultados se muestran en la **Tabla 1**).

1. **Modelo Global:** La matriz **X** está compuesta por los biomarcadores obtenidos a partir de todos los modelos farmacocinéticos.
2. **Modelos Individuales:** El siguiente paso es la disgregación de la matriz global **X**, centrando el análisis en los diferentes modelos individualmente. Para cada uno de los análisis, solo se considera un único modelo farmacocinético, de la misma forma se construirá un modelo individual utilizando el modelo MCR-ALS.
3. **Modelo combinado junto con MCR-ALS:** Una vez se ha seleccionado el mejor modelo farmacocinético, los parámetros de MCR pueden ser añadidos a la matriz **X** para mejorar los resultados. En este caso, la matriz **X** se compone de los biomarcadores del modelo AATH y de los parámetros proporcionados por MCR-ALS. Es importante hacer esta combinación solo con un solo modelo para evitar la inclusión de ruido y facilitar la interpretación.

El valor máximo de *f-score* obtenido para el modelo combinado es de 0,8388 y la media de la distribución de *f-score* es 0,7804. Las variables de MCR permanecen en el modelo más del 90% de las veces en la selección de las

mejores muestras, Un porcentaje mucho más elevado en comparación con el 70% de ratio de inclusión para los biomarcadores farmacocinéticos.

Modelo	Max f-score	Media f-score	%FP	%FN	Mejores biomarcadores
Global	0,7703	0,7349	16,5	15,2	RSS (90%)
2CXM	0,8187	0,7556	15,4	13,6	FP RSS (90%) Otros (50-60%)
AATH	0,8125	0,7530	16,8	13,2	RSS (95%) Otros (80%)
DP	0,8318	0,7455	16,8	14,7	RSS (100%) Otros (<60%)
TOFTS	0,7871	0,7302	20,7	14,6	RSS, ve (80%) Otros (<60%)
MCR	0,8145	0,7857	7,44	13,4	Tipo VT (95%) Tipo NT (100%)
MCR + AATH	0,8388	0,7804	9,63	12,6	MCR (>90%) AATH (60-70%)

Table 1. Resumen de resultados para cada tipo de análisis para una selección del 5% de las mejores muestras después del proceso iterativo (global, 1ª fila, individuales filas 2-5 y combinado 6ª fila). Los mejores biomarcadores se seleccionan utilizando el porcentaje de aparición en las mejores muestras.

Un gráfico explicando los resultados de la selección de variables del modelo combinado se muestra en la **Figura 2**.

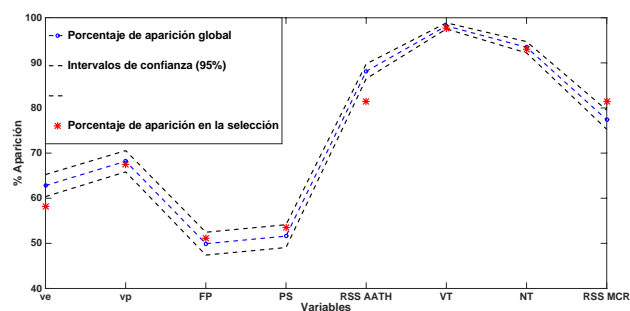


Figura 2. Gráfico de selección de variables para el modelo combinado AATH+MCR-ALS. En puntos rojos, porcentaje de aparición en el 5% de las mejores muestras; en línea punteada azul, porcentaje de aparición global y en línea punteada negra, intervalos de confianza al 95% para los puntos azules.

4. Discusión de resultados

Una vez finalizado el proceso de muestreo, las diferentes aproximaciones se pueden comparar según bondad de predicción (*f-score*) o consistencia en la selección de variables (porcentaje de aparición del biomarcador).

- **Bondad de predicción (*f-score*):**

Se puede hacer una comparación entre los diferentes modelos farmacocinéticos empleando los resultados de los modelos individuales. El mejor modelo es 2CXM,

obteniendo 0,7556 de media en el *f-score*; pero no existen grandes diferencias entre todos los modelos de segunda generación (AATH 0,7530, DP 0,7455). Sin embargo, la calidad de la predicción baja si se emplean modelos clásicos, como el modelo de Tofts (0,7302), en lugar de los modelos anteriores. Además, se prefiere el uso del modelo 2CXM o AATH sobre el DP debido al tiempo computacional excesivo requerido por este último en el cálculo de biomarcadores, mucho mayor que en los otros dos modelos de segunda generación (5 segundos frente a 3 minutos por píxel ajustado).

Empleando los biomarcadores desarrollados por medio de MCR-ALS, se maximizan los resultados de *f-score*. De esta forma, la media de *f-score* aumenta a 0,7857 con 0,8145 como su valor máximo, reduciendo enormemente el ratio de FP (7,44%).

- Consistencia en la selección de variables:

Observando los modelos individuales, los biomarcadores relacionados con el RSS siempre son incluidos en más de un 90% de las veces y más de un 80% en el modelo de Tofts. Esto puede sugerir que los píxeles que no se ajustan bien con el modelo se pueden interpretar como un signo de presencia tumoral, y pueden ser utilizados como buenos indicadores en la localización de lesiones. Comparando modelos, AATH es el modelo más consistente debido a la elevada tasa de aparición de sus variables (80%) como puede verse en la **tabla 1**.

En lo que respecta a los biomarcadores de MCR, todos ellos son altamente significativos debido a su elevado porcentaje de aparición (superior al 90% para ambos comportamientos dinámicos VT y NT y un poco menor, 80% para el RSS) como se puede observar en la **figura 2**. A la vista de los resultados, estos parámetros se incluyen la mayor parte de las veces en el modelo de predicción y su influencia en la clasificación es más alta que la de los biomarcadores proporcionados por otro tipo de modelos.

5. Conclusiones

En conclusión, el mejor modelo farmacocinético es AATH, y el mejor parámetro en términos de ratio de inclusión es el RSS. El modelo DP se descarta debido al elevado tiempo computacional requerido y el 2CXM es menos consistente en comparación con AATH. Los modelos de segunda generación son mejores que los modelos clásicos para la detección de tumores, como se demuestra por los valores más elevados obtenidos según el *f-score*.

El ratio de inclusión de los biomarcadores proporcionados por un modelo construido a partir de datos basado en variables latentes como es MCR-ALS proporciona incluso mejores resultados solo o en combinación con el mejor modelo farmacocinético, contribuyendo con información adicional e importante. Para el modelo combinado, solo se selecciona el mejor modelo (AATH). Finalmente, los comportamientos de perfusión de MCR son la mayor parte de las veces estadísticamente significativos, postulándose como los mejores biomarcadores para la detección de lesiones y clasificación de tejidos.

6. Agradecimientos

Este trabajo de has sido financiado por la Generalitat Valenciana (Conselleria d'Educació, Investigació, Cultura i Esport) bajo el proyecto AICO/2016/061.

7. Referencias

- [1] Collins DJ, Padhani AR. Dynamic magnetic resonance imaging of tumor perfusion. *IEEE Eng. Med. Biol. Mag.* 2004; 23: 65-83.
- [2] Tofts PS, Brix G, Buckley DL, Evelhoch JL, Henderson E, Knopp MV, Larsson HB, Lee TY, Mayr NA, Parker GJ, Port RE, Taylor J, Weisskoff RM. Estimating kinetic parameters from dynamic contrast-enhanced T1-weighted MRI of a diffusable tracer: standardized quantities and symbols. *J. Magn. Reson. Imaging* 1999; 10: 223-232.
- [3] Sourbron SP, Buckley DL. Tracer Kinetic modelling in MRI: estimating perfusion and capillary permeability. *Phys. Med. Biol.* 2012; 57:R1-R33.
- [4] Geladi P, Grahn H. *Multivariate Image Analysis*. Wiley: Chichester, England, 1996.
- [5] Prats-Montalbán JM, Ferrer A, de Juan A. Multivariate image analysis: a review with applications. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 2011; 107: 1-23.
- [6] Jackson JE. *A User's guide to Principal Components*. Ed. Wiley: New York, 1991.
- [7] Tauler R, Smilde AK, Kowalski BR. Selectivity, local rank, three-way data analysis and ambiguity in multivariate curve resolution. *J. Chemometrics.* 1995; 9: 31-58.
- [8] Tauler R. Multivariate curve resolution applied to second order data. *Chemom. Intell. Lab. Syst.* 1995; 30: 133-146.
- [9] Prats-Montalbán JM, Sanz-Requena R, Martí-Bonmatí L, Ferrer A. Prostate functional magnetic resonance image analysis using multivariate curve resolution methods. *J. Chemometrics.* 2014; 28:672-680.
- [10] Sjöström, M; Wold, S; Söderström, B. (1986) PLS Discriminant Plots, *Proceedings of PARC in Practice*, Amsterdam, June 19-21, 1985. Elsevier Science Publishers B.V., North-Holland.
- [11] Sanz-Requena R, Prats-Montalbán JM, Martí-Bonmatí L, Alberich-Bayarri A, García-Martí G, Pérez R, Ferrer A. Automatic individual arterial input functions calculated from PCA outperform manual and population-averaged approaches for the pharmacokinetic modeling of DCE-MR images. *J. Magn. Reson. Imaging.* 2015; 42: 477-487.
- [12] Sanz-Requena R, Martí-Bonmatí L, Pérez-Martínez R, García-Martí G. Dynamic contrast-enhanced case-control analysis in 3T MRI of prostate cancer can help to characterize tumor aggressiveness. *Eur J Radiol* (in press).
- [13] Geladi, P.; Kowalski, B.R. (1986) Partial Least-Squares Regression: A Tutorial, *Analytica Chimica Acta* 185, 1-17.
- [14] Westerhuis J, Hoefsloot H, Smit S, Vis D, Smilde A, van Velzen E, van Duynhoven J, van Dorsten F. Assessment of PLS-DA cross validation. *Metabolomics.* 2008; 4:81-89.
- [15] Kuligowski J, Pérez-Guaita D, Escobar J, de la Guardia M, Vento M, Ferrer A, Quintás G. Evaluation of the effect of chance correlations on variable selection using partial least squares-discriminant analysis. *Talanta.* 2013; 116:835-840.

Registro del electrohisterograma con electrodos anulares concéntricos en semanas de gestación tempranas

J. Mas-Cabo¹, Y. Ye-Lin¹, C. Benalcazar-Parra¹, J. Alberola-Rubio¹, A. Perales Marin², J. Garcia-Casado¹, G. Prats-Boluda¹

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (Ci2B), Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain, {yiye, carbepar, jgarcia, gprats}@ci2b.upv.es, {javier.mas.cabo, palberola.rubio}@gmail.com

² Servicio de Obstetricia, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain, perales_alf@gva.es

Resumen

Tradicionalmente el electrohisterograma (EHG) se ha captado mediante electrodos de disco situados sobre el abdomen gestante. Puesto que se ha constatado que el uso de electrodos anulares permite aumentar la resolución espacial y reducir interferencias en registros de EHG sobre edades de gestación avanzadas, el objetivo de este trabajo es estudiar la posibilidad de captar la actividad mioeléctrica uterina mediante electrodos anulares en mujeres con edades de gestación tempranas. Los resultados muestran que, los electrodos anulares tienen una capacidad similar a los electrodos de disco para detectar actividad contráctil, y las señales EHG-bursts captadas mediante electrodos anulares son de menor amplitud y presentan menor contenido espectral en el rango de baja frecuencia. Todo ello apunta que los electrodos anulares podrían ser utilizados para obtener registros de EHG en semanas de gestación tempranas.

1. Introducción

Una de las complicaciones más frecuentes en obstetricia es el parto prematuro. Actualmente alrededor del 12% de los partos en EEUU y Europa son partos prematuros. El parto prematuro está asociado con el 85% de la mortalidad infantil y su prevalencia va en aumento [1]. Actualmente no existen herramientas diagnósticas específicas capaces de determinar cuándo un embarazo desembocará en parto prematuro. Cuando existen factores de riesgo o una paciente presenta algún síntoma que pudiera implicar amenaza de parto prematuro la práctica habitual para determinar y evaluar este riesgo consiste en monitorizar la dinámica uterina mediante el uso de un tocodinámometro (TOCO) que registra cambios en la presión de la superficie abdominal resultantes de la contracción uterina. Sin embargo, la monitorización de la actividad uterina mediante el TOCO depende sobremanera de la pericia del examinador a la vez que no proporciona información para diferenciar contracciones efectivas de las no efectivas [2]. El registro de la actividad mioeléctrica uterina en superficie, electrohisterograma (EHG), ha surgido como una técnica alternativa de monitorización de la dinámica uterina, siendo además capaz de aportar información sobre la eficiencia de las contracciones [2, 3]. A partir de las señales de EHG y empleando diferentes técnicas de análisis se pueden obtener parámetros relacionados con la actividad contráctil que ofrezcan información sobre el horizonte temporal del parto [2, 4].

No obstante, los registros obtenidos mediante electrodos tradicionales, se ven afectados tanto por una selectividad

espacial pobre como por la direccionalidad relativa de la propagación de la contracción [5]. En este contexto, estudios previos han demostrado la viabilidad del uso de electrodos anulares para la monitorización de la dinámica uterina en mujeres embarazadas a partir de la semana de gestación 37 [5]. Mediante el uso de este tipo de electrodos se consigue una señal de calidad, con mejor SNR (Signal to noise ratio) y mayor atenuación de la interferencia cardíaca respecto de los registros bipolares con electrodos convencionales, presentando características espectrales similares en el ancho de banda de interés y reduciendo las interferencias de baja frecuencia [5]. En este último trabajo, se ha demostrado que la amplitud de los registros bipolares obtenidos con electrodos concéntricos anulares es de orden de decenas de microvoltios, lo cual es significativamente menor a la asociada a registros bipolares convencionales. Teniendo en cuenta que, la amplitud de la señal EHG en semanas de gestación tempranas es mucho menor que en semanas de gestación tardías, el uso de electrodos anulares para dicha captación supone un reto aún mayor. Así, el objetivo del presente trabajo es determinar la viabilidad del uso de electrodos concéntricos anulares para captar el EHG en superficie abdominal en mujeres gestantes en semanas de gestación tempranas. Se analizará si existen diferencias entre los parámetros obtenidos correspondientes a los registros bipolares convencionales y los derivados de los registros bipolares concéntricos (BC-EHG).

2. Material y Métodos

A. Adquisición de Datos

El estudio incluye un total de 34 registros realizados sobre 19 pacientes, en el *Hospital Universitari i Politècnic La Fe* de Valencia. El estudio fue aprobado por el comité de ética de dicho hospital. Asimismo, las pacientes incluidas en el estudio fueron informadas con anterioridad a su participación, sobre el protocolo de registro, dando su consentimiento. Se han incluido en el estudio pacientes que ingresaron por riesgo de parto prematuro a causa de diversos factores como actividad uterina y/o borramiento del cuello, y con una edad gestacional entre 25 y 36 semanas. De las pacientes incluidas se recopila la información obstétrica mostrada en la *Tabla 1*, y se les realiza un seguimiento durante el embarazo hasta el momento del parto. Se han excluido del estudio aquellas pacientes que presentaron riesgo de parto prematuro, pero no iniciaron el parto de forma espontánea posteriormente.

Edad (años)	31.47 ± 5.48
Semana Gestación	31.05 ± 2.36
Paridad	0.37 ± 0.5
Gestaciones	2.11 ± 1.45
Abortos	0.53 ± 0.96
Cesáreas	0.06 ± 0.24
RPM	0.19 ± 0.4
L. Cérnix (mm)	22.32 ± 9.43

Tabla 1. Datos obstétricos de las pacientes incluidas.

En cuanto al protocolo de registro, en primer lugar, se prepara la piel donde se situarán los electrodos empleando pasta abrasiva para disminuir la impedancia electrodo-piel. En cada sesión se colocan dos electrodos desechables de Ag/AgCl en la zona supraumbilical, con una separación de 8 cm y un electrodo concéntrico anular de diseño propio (60 mm de radio exterior) en la zona subumbilical, como se indica en la *Figura 1*. Las grandes dimensiones de dicho electrodo obedecen a la débil amplitud de la señal de EHG especialmente en semanas tempranas de gestación, problema al que se trata de dar solución mediante el aumento de las mismas. Además, se dispone de varios anillos con el fin de determinar un tamaño óptimo del electrodo que permita registrar la señal correctamente en semanas tempranas. En cada una de las caderas se coloca un electrodo desechable de Ag/AgCl (EL501, Biopac Systems Inc, Santa Barbara, CA, USA) que sirven de electrodo de masa y electrodo de referencia. Las señales analizadas en este trabajo son obtenidas en configuración bipolar a partir de las señales monopoles registradas:

$$\text{Bip} = M_1 - M_2; \quad BC_1 = U_2 - U_1; \quad BC_2 = U_3 - U_1 \quad (1)$$

Dónde las señales M_1 y M_2 proceden de los dos electrodos monopoles convencionales, y las señales U_1 , U_2 y U_3 son los biopotenciales captado por los tres anillos del electrodo concéntrico mostrado en la *Figura 1*, desde el anillo interno al externo respectivamente. Para la adquisición de las señales se han empleado dos módulos diseñados ad-hoc por el presente grupo de investigación [5, 6]. Estos amplificadores proporcionan una ganancia de 2059 V/V en el ancho de banda pasante entre 0.1 y 4 Hz.

Posteriormente las señales de EHG fueron digitalizadas mediante un CAD con 24 bits de resolución y muestreadas

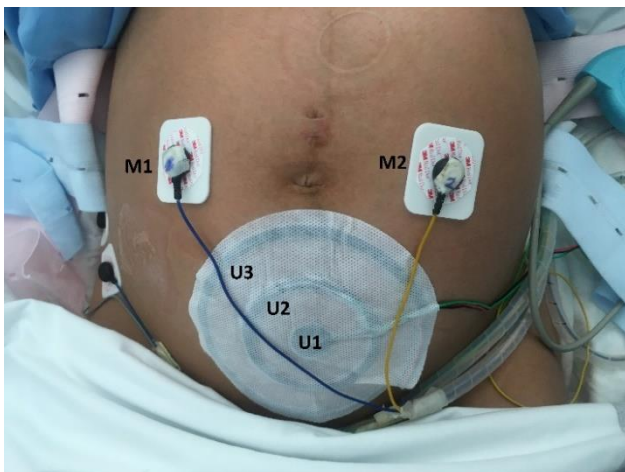


Figura 1. Posicionamiento de los electrodos sobre una paciente.

a 500 Hz para posteriormente diezmarlas a una frecuencia de 20 Hz. De forma simultánea se ha adquirido el registro de TOCO mediante la colocación de un tocodinamómetro en el abdomen. La señal de salida es acondicionada mediante Corometric 170 de GE Medical Systems y transmitida al PC a través del puerto serie, siendo la frecuencia de muestreo 4 Hz.

B. Análisis de datos

En primer lugar, se han identificado las contracciones presentes en las tres señales de EHG (bipolar convencional y bipolares concéntricos BC_1 y BC_2). La segmentación fue llevada a cabo por expertos de acuerdo con los siguientes criterios: deben corresponder a cambios significativos en amplitud y/o frecuencia respecto al tono basal con una duración mínima de 40 s y además en ausencia de artefactos de movimiento evidentes [2, 3].

Una vez identificadas las contracciones (EHG-bursts), para cada una de ellas se han obtenido los siguientes parámetros temporales y espectrales (periodograma) empleados en la literatura [2, 4]: Amplitud pico a pico (App), duración de la contracción, frecuencia media (MF) y frecuencia dominante en el rango de frecuencias de [0.2 - 1] Hz (DF_1), frecuencia dominante en el rango [0.34 - 1] Hz (DF_2), la energía normalizada por subbanda [0.2 - 0.34] Hz (NE_1), [0.34 - 0.6] Hz (NE_2) y [0.6 - 1] Hz (NE_3). También, se ha calculado el nº de contracciones presentes cada diez minutos (CT/10min) de registro. Subsecuentemente se ha calculado la mediana de los valores de los parámetros obtenidos para todas las contracciones analizadas en un mismo registro.

Finalmente se ha realizado un test estadístico de comparación de medianas de Wilcoxon para analizar si existen diferencias en los parámetros obtenidos para los registros bipolares convencionales y los registros BC's.

3. Resultados

En la *Tabla 2* se muestra el número de sesiones en las que se ha identificado actividad contráctil (al menos una contracción) en cada uno de los canales de registro para las 34 sesiones analizadas. Se observa que los canales BC's presentan un registro de actividad ligeramente inferior al canal bipolar convencional, aunque en cualquier caso siempre superior al registro de TOCO. En la *Figura 2* se representan 1000 s de registro simultáneo de TOCO, de EHG bipolar convencional y dos registros BC-EHG (BC_1 y BC_2). En todos ellos se identifica claramente la presencia de tres contracciones. La amplitud de las señales BC-EHG es menor que la del registro bipolar.

Canal	Sesiones con actividad
TOCO	17
Bipolar	27
BC₁	26
BC₂	24

Tabla 2. Sesiones en las que se detecta actividad en cada uno de los canales, para las 19 pacientes respecto a las 34 sesiones incluidas.

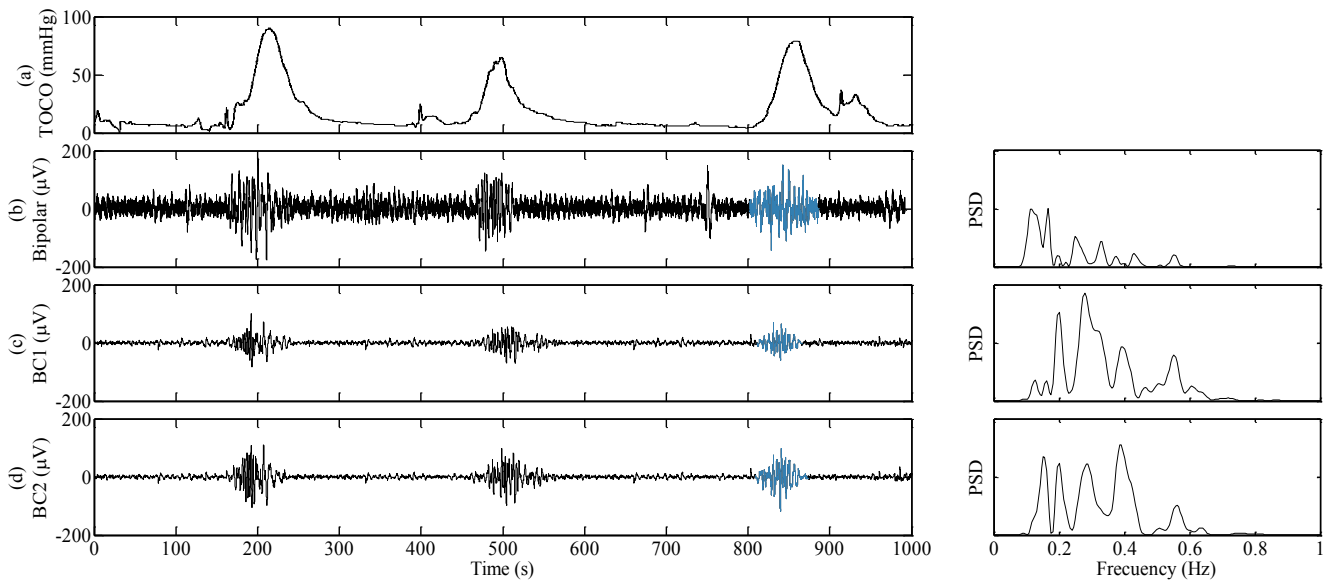


Figura 2. A la izquierda registros simultáneos de TOCO (a) junto con registros de EHG Bipolar (b), BC1 (c) y BC2 (d). A la derecha densidad espectral de potencia de la contracción n³ (resaltada en color azul) de los diferentes canales de EHG.

Además, en comparación con el registro bipolar convencional, el contenido energético normalizado en el ancho de banda [0.34 - 0.6] Hz es mayor en los canales BC₁ y BC₂, mientras que en el registro bipolar convencional el contenido espectral se distribuye principalmente en el rango de [0.2 - 0.34] Hz.

La *Tabla 3* muestra los valores de los parámetros temporales y espectrales computados para cada canal. ‘*’ indica que existen diferencias estadísticamente significativas entre los canales BC₁ y BC₂ respecto al canal Bipolar. Se observa que la duración de las contracciones es similar para todos los canales de EHG encontrándose además dentro del rango de valores reportados en la literatura, al igual que los parámetros DF₁, DF₂ y NE₃ [5]. Sin embargo, las amplitudes pico a pico (App) de los canales BC’s son significativamente menores a la amplitud del registro bipolar. Asimismo, se ha encontrado diferencias estadísticamente significativas en la distribución del contenido espectral. Esto es, los registros BC-EHG presentan un contenido energético inferior en el

rango de baja frecuencia (NE₁). Estos resultados son acordes con las diferencias observadas en la PSD de la *Figura 2* y con los resultados reportados en la literatura [5].

4. Discusión

En el presente trabajo se han analizado y comparado diferentes parámetros procedentes de señales de EHG adquiridas mediante un electrodo multianular, respecto a otra adquirida mediante electrodos de disco convencionales, en pacientes con semanas de gestación tempranas (de 25 a 36 semanas). Se han encontrado diferencias entre el número de sesiones que presentan actividad en los distintos canales. Los registros de presión en superficie presentan una menor cantidad de sesiones en las que registra información contráctil respecto a los registros de EHG. Estos resultados coinciden con otros autores que han determinado que los registros de EHG tienen una mayor capacidad de detectar las contracciones que los habituales de tocodinometría [7]. Asimismo, los canales BC’s poseen valores similares en cuanto al número de sesiones en las que registran actividad, pero ambos ligeramente por debajo del canal Bipolar, lo que concuerda con el estudio previo realizado sobre pacientes a término [5].

En los parámetros obtenidos existen diferencias significativas tanto en amplitud como en contenido espectral. El canal Bipolar con electrodos de disco proporciona señales de mayor amplitud que los registros de BC-EHG. Los resultados son similares a los expuestos en la literatura [5]. A diferencia de este último trabajo, la actividad mioeléctrica uterina en semanas de gestación tempranas es más débil en amplitud. La solución empleada en este trabajo para poder registrar estas señales de menor amplitud ha sido aumentar la distancia inter-electrodo del electrodo anular. Otros factores que influyen en la amplitud son los relacionados con la captación de la señal bioeléctrica, como podría ser uso de gel electrolítico, así como la adherencia del electrodo-piel. Además, en los EHG-burst de los registros BC-EHG se potencian las altas

	Bipolar	BC1	BC2
	Nº Pac.: 15	Nº Pac.: 13	Nº Pac.: 13
	Nº Reg.: 27	Nº Reg.: 26	Nº Reg.: 24
App (µV)	120 ± 44.5	38.4 ± 22.8*	62.5 ± 36.7*
Dur. (s)	96.4 ± 46.8	99.1 ± 51.2	96.4 ± 46.8
MF (Hz)	0.34 ± 0.03	0.36 ± 0.03*	0.34 ± 0.03
DF₁ (Hz)	0.27 ± 0.04	0.27 ± 0.06	0.28 ± 0.05
DF₂ (Hz)	0.41 ± 0.04	0.41 ± 0.04	0.42 ± 0.04
NE₁	0.67 ± 0.09	0.57 ± 0.13*	0.61 ± 0.11*
NE₂	0.26 ± 0.07	0.34 ± 0.12*	0.35 ± 0.11*
NE₃	0.07 ± 0.03	0.07 ± 0.02	0.07 ± 0.03

Tabla 3. Media y desviación típica de los parámetros calculados a partir de los distintos canales de EHG registrados.

frecuencias (NE_2), lo cual se debe principalmente a la configuración de los electrodos anulares, cuya función de transferencia tiene un comportamiento similar al filtro paso alto [8]. Sin embargo, a pesar de que esta atenuación afecta a las componentes de baja frecuencia del EHG, hay que destacar que la mayoría de parámetros empleados para caracterizar los registros se calculan sobre el ancho de banda de alta frecuencia [9]. Además, esta atenuación de las bajas frecuencias puede resultar positiva, al atenuar artefactos que afectan a la línea base, como los debidos al movimiento. Es por esto que los resultados parecen apuntar a la viabilidad de los electrodos concéntricos anulares para la captación de la actividad uterina en semanas de gestación tempranas.

En este trabajo se han registrado dos canales BC's con el fin de determinar la mejor dimensión del electrodo anular para la captación de la actividad uterina en semanas tempranas de gestación. Los resultados experimentales muestran que los canales BC_1 y BC_2 presentan similar detectabilidad y similares parámetros temporales, así como espectrales, exceptuando la amplitud pico a pico, ya que la distancia entre los electrodos es del doble. Por todo esto podría prescindirse del tercer anillo, resultando un electrodo anular con un diámetro exterior de 6 cm. En este sentido, no se recomienda emplear electrodos anulares de dimensiones menores para la captación de la actividad mioeléctrica uterina en pacientes con semanas de gestación tempranas dado que la amplitud de la señal captada con ese tamaño se sitúa en torno a los 40 μV .

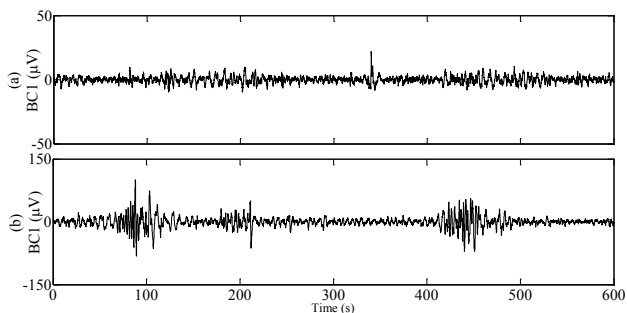


Figura 3. Registros BC_1 -EHG en la semana de gestación 33 en una paciente con parto a término (a) y en otra con parto pretérmino (b).

Por otro lado, en la *Figura 3* se muestra el registro de EHG de dos pacientes, en la misma semana gestacional, donde se puede observar que existen diferencias en la amplitud de las contracciones (EHG-burst) siendo mucho mayores para la paciente que tuvo parto prematuro (*Figura 3, traza b*) frente a la que finalmente dio a luz a término (*Figura 3, traza a*). Además, se observa también un mayor contenido de componentes de alta frecuencia, lo cual es acorde a la bibliografía [3], según la cual a medida que se acerca el parto el contenido espectral de los EHG-burst se desplaza hacia frecuencias más altas. Estos resultados sugieren que los electrodos concéntricos anulares podrían utilizarse para diferenciar las contracciones efectivas y las no-efectivas en las aplicaciones de la predicción del parto prematuro. Como trabajo futuro se pretende extender el estudio a semanas de gestación incluso inferiores, abarcando de la semana 20 a la 36 y obtener una base de datos lo suficientemente amplia para desarrollar modelos

predictores del parto prematuro. Para ello es necesario aumentar el tamaño de la base de datos disponible, ya que supone una limitación de cara a la predicción de este tipo de partos.

5. Conclusión

Las señales BC_1 y BC_2 muestran una capacidad similar a los registros bipolares convencionales en la captación de contracciones uterinas, sin diferencias significativas en la duración y frecuencias dominantes. No obstante, los registros BC's tienen una amplitud significativamente inferior a los registros bipolares y un menor contenido energético en el rango de baja frecuencia [0.1 - 0.2] Hz. Además, los resultados obtenidos indican que la actividad eléctrica uterina puede ser captada correctamente con los electrodos anulares propuestos en semanas de gestación tempranas comprendidas entre la 25 y la 36.

Referencias

- [1] Página web del National Center for Health Statistics (CDC/NCHS). <http://www.cdc.gov/nchs/> (Consultada: Marzo 2016).
- [2] D. Schlembach, W. L. Maner, R. E. Garfield, and H. Maul. Monitoring the progress of pregnancy and labor using electromyography. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, vol. 144, sup 1, 2009, pp 33-39.
- [3] Catalin Buhimschi, Mary B. Boyle, Robert E. Garfield. Electrical Activity of the Human Uterus During Pregnancy as recorded from the Abdominal Surface. *Obstetrics & Gynecology*, vol 90, sup 1, 1997, pp 102-111.
- [4] G. Fele-Zorz, G. Kavsek, Z. Novak-Antolic, F. Jager. A comparison of various linear and non-linear signal processing techniques to separate uterine EMG records of term and pre-term delivery groups. *Med. Biol. Eng. Comput.*, vol 46, sup 9, 2008, pp 911-922.
- [5] Y. Ye-Lin, J. Alberola-Rubio, G. Prats-Boluda, A. Perales, J. Valero, D. Desantes, J. Garcia-Casado. Feasibility and analysis of bipolar concentric recording of electrohysterogram with flexible active electrode. *Annals of Biomedical Engineering*, vol 43, sup 4, 2015, pp 968-76.
- [6] J. Alberola-Rubio, G. Prats-Boluda, Y. Ye-Lin, J.M. Bueno-Barrachina, J. Valero, D. Desantes, A. Perales, J. Garcia-casado. New clinically friendly EHG recording system. *37th Annual Conference of IEEE Eng. in Med. and Biol. Society*.
- [7] J. Alberola-Rubio, G. Prats-Boluda, Y. Ye-Lin, J. Valero, A. Perales, J. Garcia-Casado. Comparison of non-invasive electrohysterographic recording techniques for monitoring uterine dynamics. *Medical Engineer and Physics*, vol 35, sup 12, 2013, pp 1736-1743.
- [8] Farina, D., and C. Cescon. Concentric-ring electrode system for noninvasive detection of single motor unit activity. *IEEE Trans. Biomedical Engineering*. vol 48, sup 11, 2001, pp 1326-1334.
- [9] Garfield, R. E., W. L. Maner, L. B. Mackay, D. Schlembach, and G. R. Saade. Comparing uterine electromyography activity of antepartum patients vs. term labor patients. *Am. J. Obstet. Gynecol*, vol 193, sup 1, 2005, pp:23-29.

Detección y clasificación de enfisema pulmonar en imágenes de TAC mediante Redes Neuronales Convolucionales Multiescala

D. Bermejo Peláez^{1,2}, R. San José Estépar³, M.J Ledesma-Carbayo^{1,2}

¹ Biomedical Image Technologies, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España; ² CIBER-BBN, Madrid, España

³ Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA, United States

Resumen

En este trabajo proponemos y validamos una herramienta para el reconocimiento de patrones de enfisema pulmonar, fenotipo principal de la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) en imágenes de TAC. El método propuesto se basa en un Red Neuronal Convolutiva (CNN) Multiescala diseñada para la detección y clasificación de 6 clases de tejido pulmonar, incluyendo 5 patrones de enfisema y tejido normal. La red propuesta consta de 4 capas convolucionales y 3 de submuestreo, y la entrada a la misma corresponde a una representación multiescala de la imagen pulmonar a clasificar. Dicho método ha sido entrenado y validado con un conjunto de datos de 1337 muestras provenientes de 267 escáneres de TAC pulmonar.

1. Motivación

La Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) es actualmente la cuarta causa de muerte en el mundo, y será la tercera en unos años dada su creciente prevalencia, lo que ha supuesto un creciente interés en estudios poblacionales que permitan entender mejor su patofisiología y alternativas terapéuticas. La EPOC está caracterizada por una limitación persistente del flujo de aire. Se puede dividir en dos fenotipos principales: la bronquitis crónica y el enfisema pulmonar, caracterizado por la pérdida de la elasticidad pulmonar y el agrandamiento anormal de los espacios aéreos distales a los bronquiolos terminales, juntamente con una destrucción de las paredes alveolares y de los lechos capilares. La progresión de enfisema tradicionalmente ha sido evaluada mediante técnicas espirométricas (FEV1), aunque hoy en día se considera un parámetro no específico y poco sensible en los estadios tempranos de la enfermedad.

Los cambios en la densidad pulmonar, y por tanto, la presencia y progresión del enfisema, pueden ser medidos usando tomografía axial computarizada (TAC) [1]. El análisis densitométrico de TAC está ampliamente aceptado como técnica estándar para la cuantificación de enfisema. Esta técnica consiste en elegir cierto umbral Hounsfield en la máscara del pulmón para discriminar el tejido enfisematoso del no enfisematoso. Esta técnica, a pesar de su gran sensibilidad al ruido y a los parámetros de adquisición, representa el método escogido en la mayoría de los estudios clínicos [2].

Aunque un enfoque densitométrico si podría cuantificar la extensión de la enfermedad, no podría llevar a cabo una clasificación de la misma. Es por eso que se han propuesto diversos métodos para la clasificación de enfisema basado en información de textura [3-5].

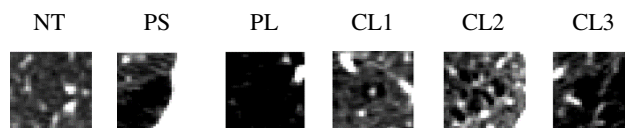


Figura 1. Ejemplo de regiones de los distintos patrones de enfisema a clasificar, en una ventana de $[-945,700]$ (HU). Regiones de tamaño de 31×31 píxeles.

Existen patrones radiológicos prototípicos del tejido enfisematoso correspondiente a enfisema centrilobular, paraseptal y panlobular. Estos patrones llevan a una clasificación de seis patrones y tipos de tejido enfisematoso: tejido normal (NT), enfisema paraseptal (PS), panlobular (PL), y centrilobular leve, moderado y severo (CL1,CL2,CL3). En la Figura 1 se muestran ejemplos de imágenes de TAC de cada una de las clases descritas, con sus correspondientes patrones radiológicos.

2. Métodos

2.1. Aproximación al problema

La metodología propuesta está basada en el etiquetado de regiones de interés (ROIs) bidimensionales. La definición de la extensión física de dichas regiones es crítica para el éxito de la clasificación, ya que una ROI demasiado pequeña puede no contener un lóbulo secundario completo (unidad fundamental del parénquima pulmonar), y una ROI demasiado grande puede corresponder a una región con dos clases de tejidos diferentes. Tras llevar a cabo diferentes experimentos para la correcta definición de la extensión apropiada de estas regiones, se ha corroborado el tamaño óptimo propuesto por L. Sørensen et al. [6] – $24,18 \times 24,18 \text{ mm}^2$.

2.2. Método de clasificación de referencia

El método de referencia de este trabajo está basada en el propuesto por Mendoza et al. en [7], que fue implementado y mejorado en [8]. Este método se basa en la discriminación de las distintas clases de enfisema mediante las distribuciones locales de intensidad, estimadas mediante el método de Estimación Kernel de la función de Densidad (KDE), y clasificadas posteriormente mediante un clasificador KNN.

En [7] los autores mostraron que la discriminación entre clases de enfisema se puede llevar a cabo mediante la distribución de intensidad de la imagen a clasificar, obteniendo siempre mejores resultados que cuando se usaban características más complejas como LBP, LBPINT o INT.

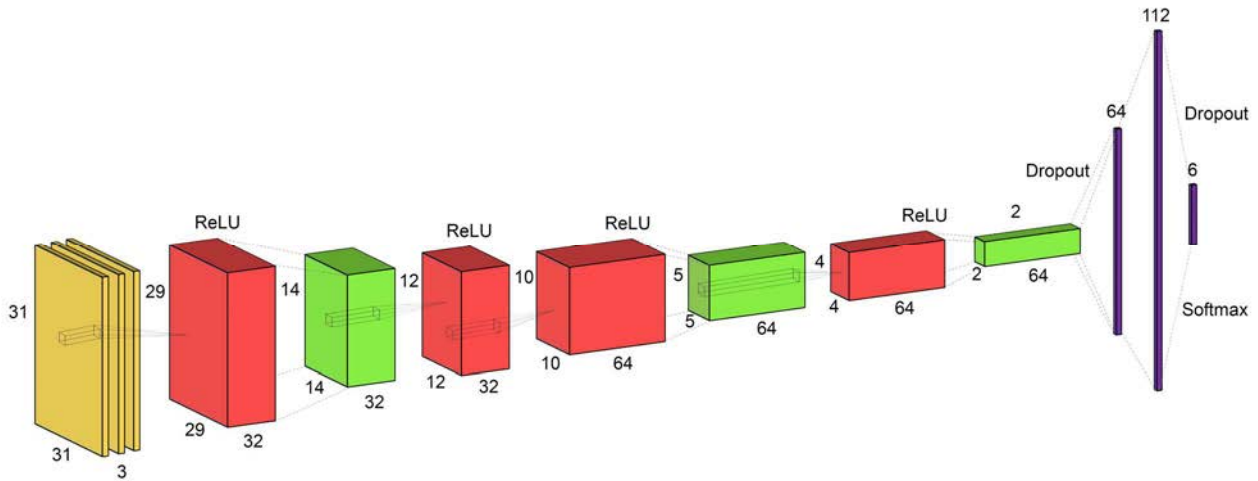


Figura 2. Arquitectura de la CNN multiscala propuesta con 4 capas convolucionales (rojo) y 3 de submuestreo (verde).

2.3. Red Neuronal Convolucional Multiescala

Las CNNs desde sus primeras implementaciones ya demostraron un excelente rendimiento en tareas como el reconocimiento y clasificación de imágenes. Estas arquitecturas profundas están inspiradas en procesos biológicos como el sistema visual, y están diseñadas para llevar a cabo un reconocimiento de patrones a partir de los propios datos de entrada incorporando tanto la etapa de extracción automática de características como la de clasificación. Gracias a este aprendizaje y extracción automática de las características, no es necesario una definición y extracción manual de las mismas.

Arquitectura

Como sabemos, el sistema visual humano es un proceso multiescala. En este trabajo proponemos una Red Neuronal Convolucional Multiescala (M-CNN), donde la red pueda aprender los descriptores o características óptimas de los datos de entrada no sólo al nivel de escala de la imagen original, sino también a otros niveles. De esta forma la entrada a la red se compone de una representación multiescala a diferentes niveles de la imagen a clasificar. Se hará uso de dos escalas adicionales a parte de la determinada por la imagen original. Las versiones escaladas corresponden a versiones filtradas mediante filtros gaussianos según la siguiente ecuación:

$$I_{\sigma} = I * G_{\sigma}, \sigma \in \{0.3, 0.8\}$$

La arquitectura de la CNN Multiescala propuesta se muestra en la Figura 2, compuesta de 4 capas convolucionales y 3 de submuestreo.

La entrada a la red es una imagen de tamaño 31x31x3, donde se reflejan las 3 representaciones a escalas diferentes, que es convolucionada en la primera etapa con un banco de 32 filtros de tamaño 3x3 para captar información local de la imagen. Estas primeras capas serán las encargadas de aprender las características de más bajo nivel de los datos de entrada. A esta capa convolucional, después de aplicarle la transformación no lineal ReLU $f(x) = \max(0, x)$, le sigue una capa de agrupamiento de tipo *maxpooling* con un campo receptivo de 2x2, donde reduciremos la dimensaionalidad de las características a la mitad. A estas capas les siguen una sucesión de capas

convolucionales y de agrupamiento, donde se extraen características distribuidas en una jerarquía, desde niveles locales hasta niveles con mayor abstracción.

Las características resultantes son introducidas en una sucesión de 3 capas densamente conectadas compuestas de 64, 112 y 6 neuronas respectivamente, ya que 6 es el número de clases considerado.

El entrenamiento de la red se basa en un problema de optimización para la minimización de la función de coste, en este caso la entropía cruzada. En este trabajo usamos el método de Descenso de Gradiente Estocástico (SDG) con una actualización de momentos de Nesterov [9].

Prevención del sobreajuste

El problema del sobreajuste de los parámetros de la red a los datos de entrenamiento se ha abordado mediante la implementación de cuatro técnicas diferentes.

En primer lugar se ha llevado una regularización de la función de coste. Mediante la regularización L2 se penaliza la magnitud al cuadrado de todos los pesos de la red (ω) directamente en la función de coste añadiendo un término regularizador de valor $\frac{1}{2} \lambda \omega^2$, donde λ es el parámetro regularizador. Este método penaliza los cambios abruptos dando preferencia a cambios suaves.

La segunda técnica empleada es el aumento de datos. A mayor número de datos con los que entrenar la red, menor será el sobreajuste debido a la mayor variabilidad. Se ha llevado a cabo una técnica de aumento de datos artificial usando 7 transformaciones diferentes sobre el conjunto de datos de entrenamiento gracias a transformaciones de rotación, inversión y combinación de ambas.

Otra técnica es la interrupción anticipada, donde se detiene la fase de entrenamiento antes de que comience el proceso de sobreajuste.

Por último, se ha reducido el sobreajuste de la red mediante la técnica de *dropout* [10], que consiste en desconectar aleatoriamente ciertas neuronas a lo largo de la arquitectura con una probabilidad p , o dejarlas activadas con probabilidad $1-p$ durante la etapa de entrenamiento. Esta práctica es equivalente a entrenar un conjunto de redes que

contenga todas las posibles configuraciones de dicha red. Durante la etapa de validación se hará uso de la arquitectura original con todas las neuronas activas, de forma que el resultado equivaldrá a un promediado de los resultados de todas las posibles configuraciones encontradas.

3. Experimentos y resultados

El conjunto de datos usado en este trabajo para el entrenamiento y validación del método propuesto se compone de 1337 ROIs etiquetadas manualmente entre las 6 clases bajo estudio por neumoradiólogos experimentados. Todas estas muestras provienen de 267 estudios de TAC pulmonares del estudio COPDGene.

3.1. Prevención del sobreajuste

La Figura 3 muestra los resultados obtenidos en la minimización de la función de coste durante el entrenamiento (*epochs*) tanto en el conjunto de datos de entrenamiento como el de validación para el método propuesto aplicando y sin aplicar las técnicas descritas para la prevención del sobreajuste. Como se observa, obtenemos un mejor desempeño de la red eliminando el sobreajuste cuando estas técnicas son aplicadas.

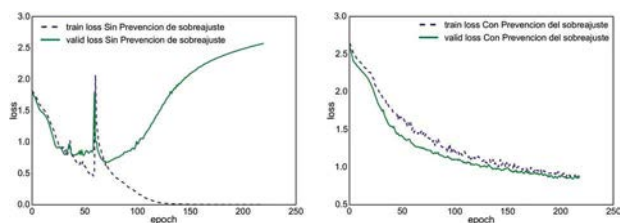


Figura 3. Diferencia en la minimización de la entropía cruzada al aplicar las técnicas de prevención del sobreajuste. (a) Sin aplicarlas. (b) Aplicadas.

3.2. Evaluación

La evaluación del método propuesto se basa en un esquema de entrenamiento-validación-test, donde 1003 muestras se usarán para el entrenamiento y validación del método, y 334 para el test final. Concretamente evaluaremos el rendimiento del método mediante validación cruzada aleatoria de 100 iteraciones, donde un 75% de las 1003 muestras componen el conjunto de entrenamiento, y el 25% restante el de validación.

Red Convolutiva Multiescala

En primer lugar se ha querido evaluar y comprobar que la introducción de tres representaciones a distintas escalas de un mismo parche a clasificar mejora el rendimiento de la red. Como se desprende de la Tabla 1, la CNN Multiescala obtiene una mayor precisión global de clasificación en las 6 clases consideradas frente a la misma arquitectura del método propuesto con entradas monoescala.

Arquitectura	Precisión [media (sd)]
CNN Monoescala	0.825 (0.025)
CNN Multiescala	0.854 (0.020)

Tabla 1. Diferencia entre la precisión de clasificación de la CNN monoescala y la multiescala para el problema de clasificación de enfisema.

Análisis del rendimiento del método

En la Tabla 2 se muestra la comparación del rendimiento del método de referencia (KDE-KNN) y de la CNN Multiescala (M-CNN) propuesta en este trabajo para el mismo problema de clasificación con los mismos datos y la misma metodología de evaluación. La Figura 4 muestra las matrices de confusión para ambos métodos. Como podemos observar, el método propuesto aumenta la precisión de clasificación en todas las clases bajo estudio y reduce considerablemente el error cometido por el método de referencia en la clasificación de las clases CL1, CL2 y CL3.

Método	Precisión [media (sd)]	95% CI [LL,UL]
KDE-KNN	0.672 (0.015)	[0.648532, 0.696318]
M-CNN	0.854 (0.020)	[0.849476, 0.858548]

Tabla 2. Diferencia entre la precisión de clasificación del método propuesto y del método de referencia.

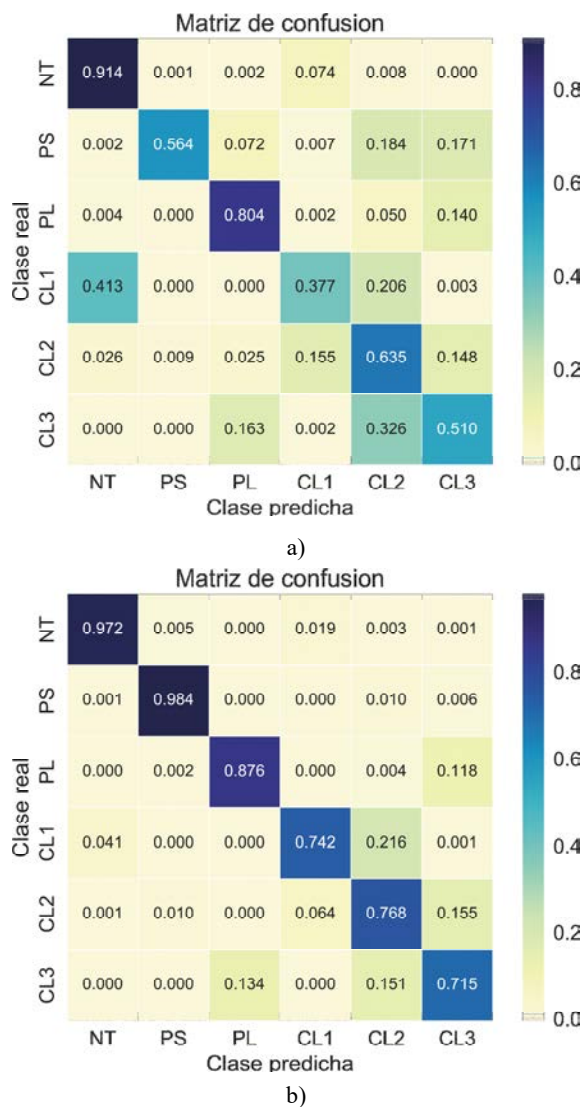


Figura 4. Matrices de confusión del método de referencia (a) y del propuesto (b).

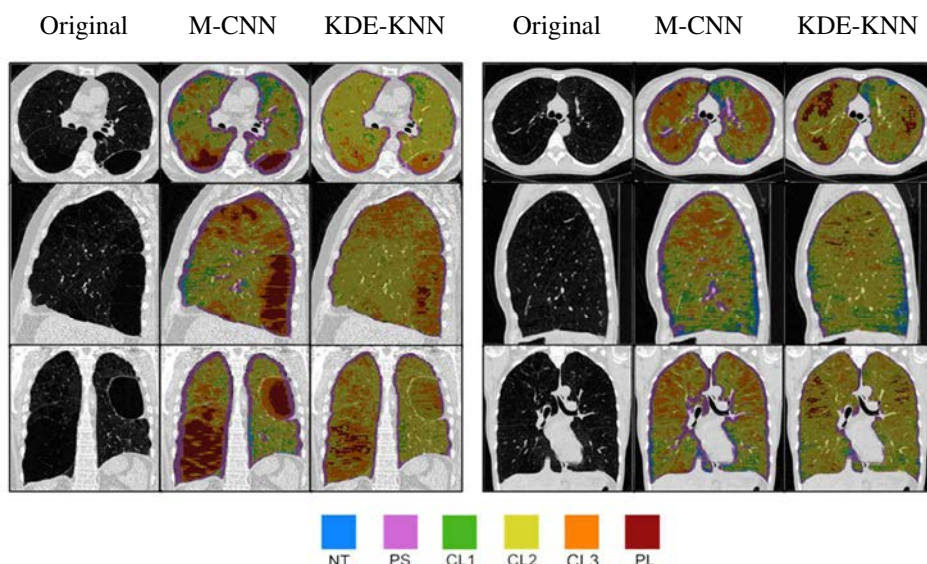


Figura 5. Resultados de clasificación para dos casos distintos de TAC pulmonar. (Primera columna) Imágenes TAC originales. (Segunda Columna) Resultados con el método propuesto. (Tercera columna) Resultados con el método de referencia.

3.3. Clasificación de pulmón completo

Para un mayor análisis, debido a que en problemas de clasificación de imágenes tiene un valor adicional evaluar los resultados a un nivel global analizando cómo se comportan los algoritmos clasificando imágenes completas, en la Figura 5 se muestran los resultados obtenidos usando ambas metodologías, el método de referencia y el propuesto en este trabajo, en la clasificación de dos casos de imágenes de TAC completas. La clasificación se ha llevado a cabo en una rejilla de muestreo de la imagen original de 5x5 píxeles en cada corte axial, donde el resto de vóxeles se han clasificado usando una interpolación del vecino más cercano. Se ha comprobado visualmente por expertos el mejor desempeño del método propuesto en la clasificación de pulmones completos.

4. Conclusiones

En este trabajo proponemos una Red Neuronal Convolutiva Multiescala para la clasificación de imágenes de TAC pulmonares en 6 clases, incluyendo 5 patrones de enfisema y tejido normal. Una nueva arquitectura se ha diseñado para capturar características de textura del tejido pulmonar en varias escalas diferentes. La arquitectura propuesta consta de 4 capas convolucionales con activaciones ReLU y 3 de submuestreo tipo *maxpooling*. El entrenamiento de la red se ha llevado a cabo minimizando la entropía cruzada mediante SDG con actualización de momentos de Nesterov. El enfoque propuesto proporciona resultados prometedores, consiguiendo una precisión global de clasificación del 85.4% en las 6 clases bajo estudio, habiendo sido evaluado en una amplia base de datos. La validación del método se ha llevado a cabo en un conjunto de 1337 muestras y mediante clasificación de imágenes de pulmón completo.

Agradecimientos

Este trabajo está parcialmente financiado por el proyecto TEC2013-4851-C2-R2 del Ministerio de Economía y Competitividad.

Referencias

- [1] A. Dirksen, et al. Exploring the role of CT densitometry: a randomised study of augmentation therapy in 1-antitrypsin deficiency. *European Respiratory Journal*, vol. 33, no. 6, pp. 1345-1353, 2009.
- [2] E. Cavigli, et al. Whole-lung densitometry versus visual assessment of emphysema. *European radiology*, vol. 19, no. 7, pp. 1686-1692, 2009.
- [3] R. Uppaluri, et al. Quantification of pulmonary emphysema from lung computed tomography images. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, vol. 156, no. 1, pp. 248-254, 1997.
- [4] A. Depeursinge, et al. Lung tissue classification using wavelet frames, *29th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 2007. EMBS 2007*, pp. 6259-6262, 2007.
- [5] Y. S. Park, et al. Texture-based quantification of pulmonary emphysema on high-resolution computed tomography: Comparison with density-based quantification and correlation with pulmonary function test. *Investigative radiology*, vol.43, no. 6, pp.395-402, 2008.
- [6] L. Sørensen, et al. Quantitative analysis of pulmonary emphysema using local binary patterns, *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 29, no. 2, pp. 559-569, 2010.
- [7] C. S. Mendoza, et al. Emphysema quantification in a multi-scanner HCRT cohort using local intensity distributions. *Proc IEEE Int Symp Biomed Imaging*, pp. 474-477, 2012.
- [8] D. Bermejo, et al. Cuantificación de enfisema pulmonar a partir de imágenes de TAC para la determinación de calcio coronario, *Actas del XXXIII Congreso Anual de la Soc. Esp. Ing. Biomédica*, pág. 285-288, 2015.
- [9] Y. Bengio, et al. Advances in optimizing recurrent networks, *2013 IEEE International Conference on Acoustics, Speech and Signal Processing*, pp. 8624-8628, 2013.
- [10] N. Srivastava, et al. Dropout: A Simple Way to Prevent Neural Networks from Overfitting, *Journal of Machine Learning*, pp. 1929-1958, 2014.

Imágenes Biomédicas 4

Viernes 25 de Noviembre

Improved automatic filtering methodology for an optimal pharmacokinetic modelling of DCE-MR images of the prostate

S. Vázquez Martínez¹, I. Bosch Roig¹, R. Sanz Requena²

¹ Communications Department, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, igbosroi@dcom.upv.es

² Biomedical Engineering / Radiology, Hospital Quirónsalud Valencia, Valencia, España, roberto.sanz@quironsalud.es

Abstract

In Dynamic Contrast-Enhanced Magnetic Resonance (DCE-MR) studies with high temporal resolution, images are quite noisy due to the complicate balance between temporal and spatial resolution. For this reason, the temporal curves extracted from the images present remarkable noise levels and, because of that, the pharmacokinetic parameters calculated by least squares fitting from the curves and the arterial phase (a useful marker in tumour diagnosis which appears in curves with high arterial contribution) are affected. In order to solve these limitations, an automatic filtering method was developed by our group. In this work, an advanced automatic filtering methodology is presented to further improve noise reduction of the temporal curves in order to obtain more accurate kinetic parameters and a proper modelling of the arterial phase.

1. Motivation

These days, the radiologist qualitative diagnosis combined with researcher quantifications offers a complete and detailed report, which helps to locate small areas of complicate detection and customize patient treatment [1]. This article is focused in DCE-MR studies and the study tissue is the prostate. From every pixel of these images, signal intensity curves versus time can be extracted. The kinetic parameters can be computed from these curves by means of non-linear least square fitting. However, images are quite noisy [2], causing incorrect fitting, wrong calculated parameters and a poor characterization of the arterial phase (signal peak which appears after contrast agent injection) in curves that show high arterial contributions. A filtering methodology was designed in order to reduce the noise and solve all those issues [1,2]. Other methods have been used in order to remove the noise of the images [3], instead of the noise of curves. Nevertheless, the current methodology presented some limitations, as the lack of curve classification, which is required to test the filter in different curve types. The objective of this article is to present an improved automatic filtering methodology, with some advances, as the new limit positioning, an improved interpolation and a curve classification method.

2. Methodology

In this work, an advance and new results in the Automatic Filtering Methodology (AFM) detailed in [1,2] have been developed to provide a more exact fitting of DCE-MR uptake curves, which provides more reliable quantitative parameters and a proper characterization of any tissue.

2.1. Pharmacokinetic modelling

The two-compartment model is used, based in the contrast exchange between vascular space and interstitial space. The pharmacokinetic parameters of the two-compartment model are [4]:

- Transfer constant K^{trans} (min^{-1}): relation between blood flow contribution, endothelial surface (interior of blood vessels) and capillary permeability.
- Rate constant k_{ep} (min^{-1}): contrast return between Extracellular Extravascular Space (EES) and vascular space.
- Intravascular extracellular volume fraction (blood plasma) v_p : tissue vascular contribution.

The Arterial Input Function (AIF) is also an important element in this model. It represents the tissue-feeding artery concentration. The iliac arteries are commonly used as AIF for the prostate.

2.2. Automatic Filtering Methodology

As in the previous methodology, the intensity curves are divided into three stages using two temporal limits, t_{lower} and t_{upper} , following the physiological standards of vascular contribution to the tissues. In this work, a new processing pipeline is presented to improve the determination of the temporal position of the limits, also taking into account the arrival times of the AIF and the uptake curves.

- In the first stage (before contrast arrival), all values become zero, because initially contrast does not exist.
- In the second stage (arterial phase), new samples are added between the original ones by means of linear interpolation. The number of samples is controlled by the interpolation degree (for instance, if the interpolation degree is 2, a new sample is inserted between two previous samples, thereby duplicating the existing number of samples between both temporal limits).
- In the third stage (washout), different linear filters have been tested (moving averages, lowess and rlowess) with maximum span (i.e. maximum filtering) to reduce the noise drastically in that part, maintaining the tendency of the original curve.

The lower limit t_{lower} is defined as the contrast arrival time, and the upper limit t_{upper} is set after the purely arterial uptake of the tissue of interest. The contrast arrival time is the temporal instant when the contrast

arrives at a certain area (blood vessels, organs and so on), which is reflected in the curves as an enhancement of the signal and a fast upslope. In order to obtain it, the average curve of all prostate uptake curves, $x(t)$, has to be calculated. Then, the time when an intensity value I exceeds the mean + 3 Standard Deviation (SD) of the initial 6 dynamic values (i.e. baseline) of $x(t)$, t_I , is obtained:

$$t_I > \text{mean}(x(t_1:t_6)) + 3 * \text{SD}(x(t_1:t_6))$$

Finally, t_{lower} is set just before t_I . The chosen number of dynamics is an empirical value, based on the experience of the radiologist. To ensure more accuracy in the pharmacokinetic modelling process, the AIF arrival time and the uptake curves arrival time (t_{lower}) must be re-allocated, ensuring that the onset instant is the same for both curves. As for the upper limit, the temporal difference between the AIF arrival time and the AIF maximum time, Δt_{AIF} , is calculated. Then, the upper limit t_{upper} is obtained as the sum of the lower limit t_{lower} plus 3 times Δt_{AIF} :

$$t_{upper} = t_{lower} + 3 * \Delta t_{AIF}$$

The number of times which Δt_{AIF} is multiplied is also an empirical value. In the 17 studies used in this work, the arterial phase of the intensity curves was contained in both limits. In Figure 1 there is a diagram which summarises the whole workflow. From the DCE-MR images, AIF and uptake curves are extracted. Non-linear least squares are applied to fit every extracted uptake curve in order to obtain the pharmacokinetic parameters. With the AFM, the uptake curves are processed to achieve more accurate and reliable biomarkers by means of non-linear least squares fitting. The same linear filter to smooth the washout part of the uptake curves is used in the washout part of the AIF.

2.3. Case classification

The implemented filtering methodology is oriented towards intensity curves with high arterial contributions. To better focus the analysis on these kind of curves, the principal component that resembles an arterial-like curve and its coefficients from Principal Components Analysis (PCA) have been used. The principal component has been identified applying the Pearson's linear correlation coefficient to every component with respect to the AIF. This component has associated coefficients which represent the arterial contribution value of every enhancement curve. Sorting these coefficients in decreasing order, a group of curves with high arterial contribution can be taken. As a criterion, the first 25 and last 25 coefficients are chosen, associated with 25 arterial-like curves and 25 non arterial-like curves, respectively. With the knowledge of the 3 type of curve patterns traditionally localized in DCE-MR studies (type 1, progressive; type 2, plateau; and type 3, washout [5]), 17 prostate studies have been classified. The patterns are represented in Figure 2. The cases are classified as washout-progressive, washout-plateau and plateau-progressive. That means that if the case 1 is washout-

progressive, its 25 first curves show the washout pattern and its 25 last curves the progressive pattern.

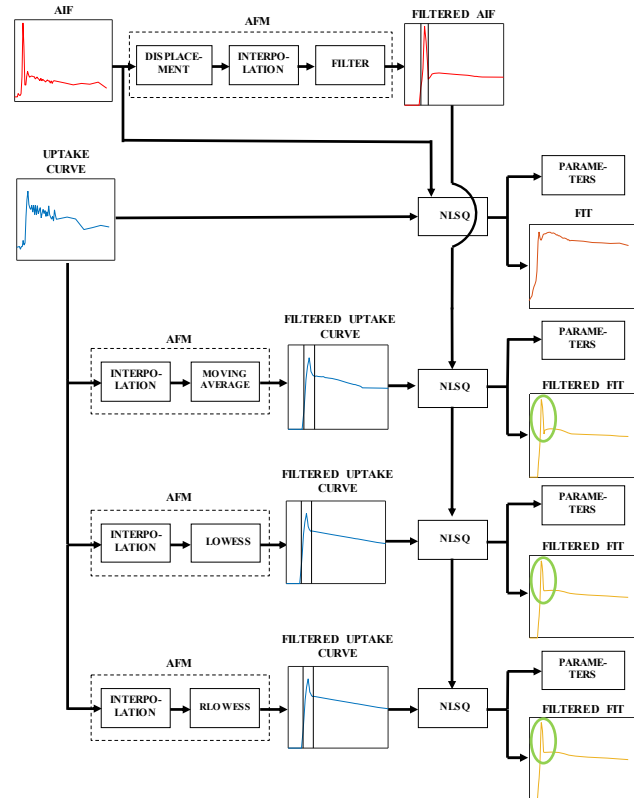


Figure 1. Diagram describing the whole workflow of the automatic designed filter. It can be seen the good fit in the arterial phase (marked with green ellipses in the filtered fit) from filtered curves (interpolation + moving average/lowess/rlowess), as opposed to the fit from non-filtered curves. Note: NLSQ means non-linear least squares.

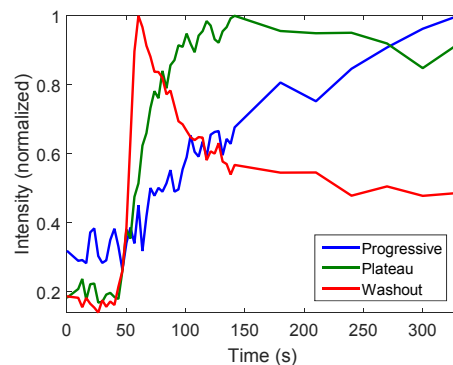


Figure 2. The three patterns of the washout phase: type 1, progressive (blue); type 2, plateau (green) and type 3, washout (red).

The cases 1 (washout-progressive), 9 (washout-plateau) and 10 (plateau-progressive) are selected in order to show the obtained results in filtered curves and non-filtered curves, and their results can be extrapolated to the same case types. Once the classification is established, the difference between the fit of filtered and non-filtered curves has to be measured in the three model cases, both

qualitatively and quantitatively. The qualitative analysis has been performed by the comparison between the average fitted curve from non-filtered (fit in Figure 1) and filtered curves (filtered fit in Figure 1).

The quantitative analysis is performed by the calculation of the parameter Mean Square Error (MSE), by calculating the difference between an intensity curve (uptake curve or filtered uptake curve in Figure 1) and its fitted curve (fit or filtered fit in Figure 1) :

$$MSE = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N (fitted\ curve(k) - intensity\ curve(k))^2$$

Furthermore, kinetic parameters are calculated from filtered (filtered uptake curve in Figure 1) and non-filtered curves (uptake curve in Figure 1) and ANOVA tests are performed to study statistical differences between them.

3. Results

As for the results, the qualitative improvement between fits is discussed at first place. It should be noted that an interpolation degree of 2 and a moving average filter have been used in this section, because globally they offer the best results in comparison to the other linear filters options and other interpolation degrees. Besides, due to the good results in the previous articles [1,2], this time new DCE-MR studies are included, in order to validate the proposed methodology, and no simulations are needed. In Figure 3, it can be seen that the average fit from the filtered first 25 curves in case 1 (washout-progressive) is more accurate in the arterial phase than the average fit from the non-filtered first 25 curves. Therefore, the obtained parameters are more reliable. In the last 25 curves, both fits are quite similar. It is also worth noting that in both fits, there are 2 small peaks, related with the modelling assumption that there may be arterial contributions.

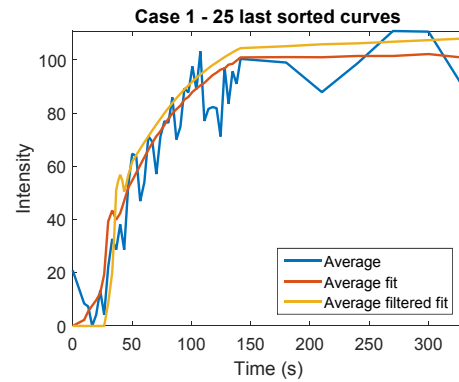
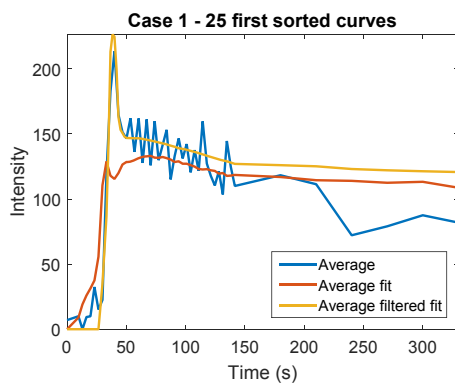


Figure 3. Comparison of average fit curves from non-filtered curves and average fit curves from filtered curves from case 1.

In case 9 (washout-plateau), in the first sorted curves there is a precise adjustment in the arterial phase and an approximate fit in the washout part. In the last curves, the average fit from the filtered curves is more exact than the fit from non-filtered curves. This can be analysed in Figure 4.

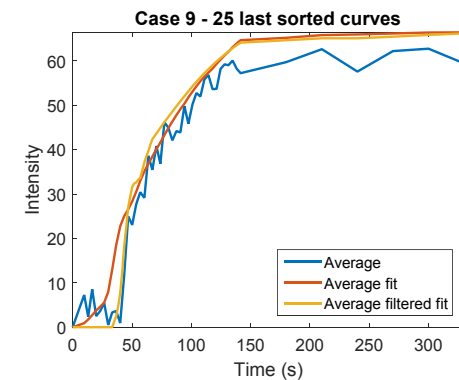
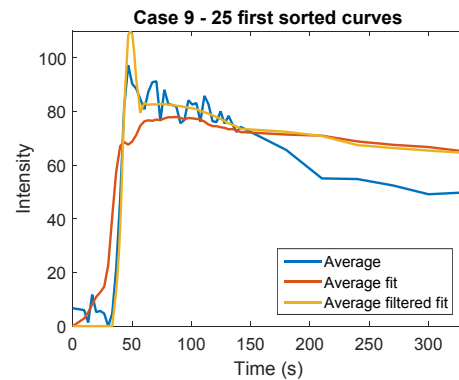


Figure 4. Comparison of average fit curves from non-filtered curves and average fit curves from filtered curves from case 9.

In case 10 (plateau-progressive), an undesired peak appears in the average fit from the filtered first curves, due to the AIF influence and the increment of samples in the arterial phase of the AFM. A relatively good agreement is obtained between the non-filtered and filtered adjustment, as it can be seen in Figure 5.

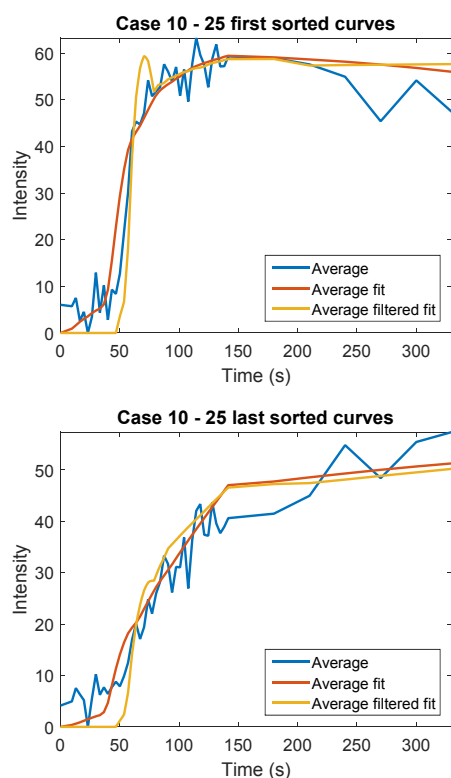


Figure 5. Comparison of average fit curves from non-filtered curves and average fit curves from filtered curves from case 10.

Once qualitatively analysed the fit goodness of filtered and non-filtered curves, the last step is to measure it quantitatively with the MSE, kinetic parameters and ANOVA test. In Table 1, it can be checked that mean and standard deviation MSE values are reduced in filtered curves, which implies a more exact fitting and more accurate and reliable kinetic parameters. The mean and standard deviation kinetic markers values show that greater v_p values, smaller K^{trans} values and similar k_{ep} values are obtained in comparison to the values from non-filtered curves. In the ANOVA tests, the p-values are lower than 0.001, which means that there are statistical significant differences between the filtered and non-filtered kinetic marker values and that the null hypothesis of the ANOVA test (all group means are equal) is rejected. As mentioned previously, the results from these cases are comparable to those with the same classification. The same analysis was performed in every case, in order to confirm that statement, obtaining similar values and fits.

4. Conclusions

Qualitatively, the curve fitting results are more accurate in filtered curves than in non-filtered curves. The arterial phase is properly respected and fitted with the proposed algorithm. Concerning the MSE, it can be seen that the designed AFM gives a better least square fitting, due to the reduced MSE values in filtered curves. Analysing the fit information, MSE values, marker values and ANOVA results, it can be assumed that the better fit of the curve provided by the proposed filter presents higher v_p values, lower K^{trans} values and similar k_{ep} values, in comparison to the standard approach without filtering. It can be

concluded that the temporal automatic filter allows obtaining more accurate and reliable parameters, both qualitatively and quantitatively, preserving the arterial phase information in the least square fitting, solving one of the limitations of this technique. Furthermore, a better modelling in high arterial contributions from the prostate is obtained. Therefore, the results with the AFM are very satisfying.

	Case 1	Case 9	Case 10	
MSE	All curves, no filter	427.04 ±171.67	78.23 ± 40.81	117.92 ± 66.57
	All curves, with filter	132.60 ± 77.87	27.33 ± 21.49	71.54 ± 35.64
	First 25 sorted curves, no filter	923.55 ±184.75	184.47 ± 60.66	98.61 ± 37.48
	First 25 sorted curves, with filter	249.67 ± 93.45	63.90 ± 23.82	88.19 ± 32.64
	Last 25 sorted curves, no filter	303.86 ± 82.31	55.72 ± 19.86	124.82 ± 77.41
	Last 25 sorted curves, with filter	164.94 ± 90.52	10.01 ± 2.93	56.31 ± 34.04
v_p	All curves, no filter	0.009 ± 0.016	0.008 ± 0.018	0.022 ± 0.018
	All curves, with filter	0.062 ± 0.022	0.058 ± 0.028	0.063 ± 0.019
K^{trans}	All curves, no filter	0.035 ± 0.016	0.024 ± 0.013	0.011 ± 0.005
	All curves, with filter	0.021 ± 0.018	0.015 ± 0.009	0.004 ± 0.002
k_{ep}	All curves, no filter	0.037 ± 0.014	0.021 ± 0.009	0.010 ± 0.006
	All curves, with filter	0.033 ± 0.018	0.019 ± 0.010	0.002 ± 0.004

Table 1. Comparison between MSE values from filtered and non-filtered curves from the representative cases.

References

- Vázquez S, Bosch I, Sanz-Requena R. Filtro temporal para optimizar la cuantificación de parámetros farmacocinéticos en estudios de perfusión sanguínea por resonancia magnética. *Actas del Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB '15)*, Madrid, 2015, pp 126-129 (ISBN: 978-84-608-3354-3).
- Sanz-Requena R, Vázquez S, Bosch I, Martí L, García G, Mañas A. Design of a temporal filter to optimize the quantification of vascular parameters in pharmacokinetic modeling of high-resolution DCE-MR images. *Proceedings of the European Congress of Radiology (ECR'16)*, Vienna, 2016 (doi: 10.1594/ecr2016/C-0136).
- Gal Y, Mehnert AJH, Bradley AP, McMahon K, Kennedy D, Crozier S. Denoising of Dynamic Contrast-Enhanced MR Images Using Dynamic Nonlocal Means. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol 29, sup 2, 2010, pp 302–310 (ISSN: 0278-0062).
- Tofts PS. Modeling Tracer Kinetics in Dynamic Gd-DTPA MR Imaging. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, vol 7, sup 1, 1997, pp 91–101 (ISSN: 1522-2586).
- Kuhl CK, Mielcareck P, Klaschik S, Leutner C, Wardelmann E, Gieseke J, Schild HH. Dynamic Breast MR Imaging: Are Signal Intensity Time Course Data Useful for Differential Diagnosis of Enhancing Lesions? *Radiology*, vol 211, sup 1, 1999, pp 101–110 (ISSN: 0033-8419).

Segmentación de la fovea mediante morfología matemática en imágenes de fondo de ojo

A. Colomer^{1,2}, S. Torres¹, V. Naranjo^{1,2} y S. Morales^{1,2}

¹ Instituto de Investigación e Innovación en Bioingeniería (I3B), Universitat Politècnica de València, España.

² Grupo Tecnologías de Informática Aplicadas a la Oftalmología, Unidad Conjunta UPV-FISABIO, España.

{adcogra, vnaranjo, sanmomar}@i3b.upv.es

Resumen

La Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE) es una enfermedad degenerativa que afecta a la mácula, estructura anatómica que se encuentra en el centro de la retina. Esta enfermedad es la principal causa de ceguera en adultos mayores de 50 años ya que la mácula es la zona del ojo encargada de la visión central. Uno de los signos más característicos de la DMAE es la aparición de drusas que se localizan alrededor de la fovea, parte central de la macula. Estas lesiones son una pieza clave en la detección de la enfermedad por parte del facultativo.

En el presente trabajo se presenta un método de detección de la fovea, a partir de imágenes de fondo de ojo, empleando morfología matemática y explotando tanto características visuales como anatómicas de la retina. Posteriormente se efectúa una exhaustiva comparativa con un método del estado del arte sobre las imágenes de la base de datos MESSIDOR, determinando cuál de ellos produce unos resultados más fructíferos.

1. Introducción

La Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE) es una patología que degrada progresivamente la fovea, estructura anatómica situada en el centro de la mácula que se encarga de la visión central. Dicha enfermedad afecta a personas adultas y se ha convertido en la principal causa de ceguera en personas mayores de 50 años. A pesar de no haber cura definitiva para la DMAE, su detección temprana puede mitigar en gran medida sus efectos [1].

Una de las modalidades de imagen a través de la cual se puede efectuar un diagnóstico de la DMAE es la imagen de fondo de ojo. Mediante un retinógrafo es posible tomar una instantánea de la capa intermedia del ojo humano, la retina, y analizar las estructuras anatómicas que se pueden ver afectadas por esta enfermedad. La acumulación de depósitos amarillentos (drusas) alrededor de la fovea es el principal signo en el que se basan los oftalmólogos para diagnosticar esta patología. Para agilizar y dar apoyo a la tarea de los médicos, sería conveniente contar con un sistema que detecte automáticamente las drusas, para ello, el primer paso es una correcta detección de la fovea.

En la literatura, es posible distinguir dos tipos de criterios para la segmentación de la mácula: un criterio basado en características visuales y otro en características anatómicas. Sinthanayothin et al. [2] presentaron una metodología para el reconocimiento de la fovea basándose en sus características típicas (por ejemplo, el área más oscura a una distancia de 2,5 veces el diámetro del disco óptico de éste) y empleando una correlación con una

plantilla de intensidades. Gagnon et al. [3] utilizaron una aproximación similar para detectar el centro de la mácula: se generó una imagen de baja resolución, en la que el píxel más oscuro se seleccionaba. Luego, buscando la cercanía con el píxel más oscuro de la imagen original, se encontraba el centro exacto de la mácula. Por otra parte, Li and Chutatape [4] extrajeron el esqueleto del árbol vascular basándose en la localización del disco óptico. Este esqueleto y el criterio de distancia de la fovea con respecto al disco óptico fueron empleados para decidir un área de interés. Finalmente, la fovea se obtiene con un filtro sobre esta región. Tobin et al. [5] propusieron un método aproximando el árbol vascular con un modelo parabólico. Una vez determinados los vasos, la fovea se encontraba siguiendo el criterio de distancia comentado anteriormente, a través del *rafé* de la retina. Niemeijer et al. [6] propusieron un método que ajustaba un modelo con una distribución de puntos a la imagen de fondo de ojo, tras lo que los puntos del modelo indicaban la ubicación de todas las características retinianas. Estos mismos autores presentaron otro artículo [7] en el que se determinaba un área de interés a partir del disco óptico. Posteriormente difuminaban la imagen y determinaban que la fovea era el píxel de menor intensidad de esta área.

En el presente trabajo se propone un método para la segmentación de la fovea que explota tanto características visuales como características anatómicas de la retina, partiendo del método descrito en [8]. Posteriormente se efectúa una exhaustiva comparativa del algoritmo resultante y el método de detección de la fovea propuesto en [9]. Para ello, se valida la implementación de ambos métodos sobre las imágenes de la base de datos MESSIDOR [10] y se establece una comparación tanto desde el punto de vista del éxito en la detección como desde el punto de vista temporal y de coste computacional.

2. Metodología

2.1. Algoritmo de segmentación de la fovea

El método propuesto por D. Welfer, J. Scharcanski y D. R. Marrinho en su artículo *Fovea center detection base on the retina anatomy and mathematical morphology* [8] tiene como objetivo la detección de la fovea empleando morfología matemática y propiedades de la anatomía de la retina humana. Sobre dicho método se han propuesto tres mejoras que propician un algoritmo mucho más robusto frente a la variabilidad que presentan las bases de datos.

En primer lugar, se selecciona la componente verde de la imagen de fondo de ojo puesto que la fovea aparece más contrastada [11] debido al pico de absorción de hemoglobina encontrado en esta zona del espectro. A continuación, y a partir de la máscara del disco óptico (obtenida a partir de un algoritmo propio [12]) se determina tanto el centro como el diámetro del disco óptico (DO). Posteriormente, se selecciona una región de interés (ROI) sobre la imagen, de tamaño tres veces el diámetro del DO. La coordenada X del centro de dicha ROI viene definida como un desplazamiento de dos veces el diámetro del disco óptico hacia la mitad temporal del ojo mientras que la coordenada Y del centro de la ROI queda determinada por la altura del centro del DO.

A continuación, se implementa una de las mejoras propuestas, consistente en realizar un realce no uniforme del contraste de la imagen, tal y como se describe en [11] con el fin de que la fovea quede más contrastada con respecto al fondo y por tanto sea mucho más fácil su detección. El resultado de aplicar este realce se puede observar en la Figura 1.

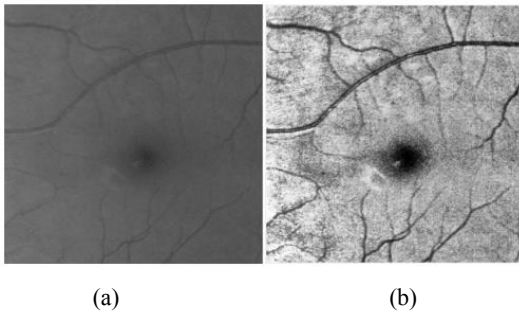


Figura 1. Comparación entre (a) imagen original y (b) resultado del realce no uniforme

Posteriormente se procede a eliminar las zonas tanto claras como oscuras que actúan como interferencia en el proceso de segmentación de la fovea. Más concretamente, se eliminan las zonas oscuras menores que 400 píxeles, para posteriormente invertir el resultado y eliminar las áreas o zonas claras menores a 5000 píxeles. Una vez eliminadas las zonas claras y oscuras según los criterios comentados (Figura 2a), se procede a identificar las regiones con menor intensidad de la imagen, mediante una transformada mínima extendida, cuyo resultado es una imagen binaria con todos los posibles candidatos (Figura 2b).

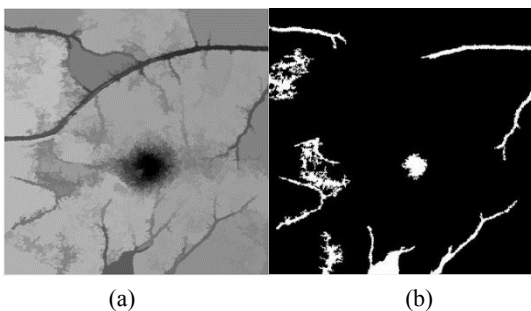


Figura 2. (a) Imagen resultante tras la eliminación de manchas claras y oscuras que interfieren en la detección de la mácula (b) Candidatos obtenidos tras la umbralización.

Tras este paso, se propone una nueva mejora sobre el algoritmo original consistente en eliminar artefactos o ruido tales como vasos sanguíneos o sombras que puedan aparecer como candidatos en la imagen binaria. Para ello, se eliminan todos los objetos que se encuentren en contacto con los bordes de la imagen, tal y como se puede apreciar en la Figura 3. El objetivo de esta mejora es tener un menor número de candidatos que analizar, y simplificar por tanto el resto del método.

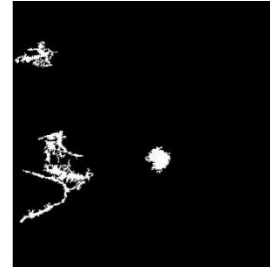


Figura 3. Candidatos resultantes tras eliminar el ruido propiciado por vasos sanguíneos.

A continuación, se vuelve a trabajar con imágenes del tamaño de la original, obteniendo así una imagen con el tamaño de la original que contiene únicamente los candidatos resultantes de eliminar el ruido.

Anatómicamente, el centro de la fovea se encuentra bajo el centro del DO, con lo que, para simplificar, se eliminan todos los candidatos por encima del mismo.

La última mejora introducida, consistente en aplicar un umbral de excentricidad de 0,97, ya que las regiones correspondientes a la fovea tienen una forma ligeramente circular. Esto también ayuda a descartar posibles restos de vasos sanguíneos que no se hayan eliminado en el paso de eliminación de ruido.

Por último, se identifica la fovea como el candidato de menor intensidad. Para ello se procede a analizar la desviación típica de cada candidato, así como su intensidad media, escogiendo finalmente como fovea el candidato que presenta una menor intensidad (Figura 4).



Figura 4. Región de la fovea detectada.

En la Figura 5 se puede observar el diagrama de flujo que sigue el método completo.

2.2. Evaluación de la segmentación de la fovea

Para poder evaluar el método detallado anteriormente se propone una técnica que cuantifica de manera objetiva la bondad de la segmentación de fovea.

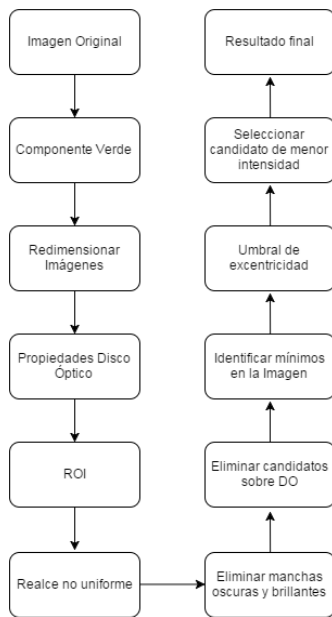


Figura 5. Diagrama de flujo del algoritmo de segmentación de la fovea.

Dicha técnica consiste en una escala de calidad entre “Excelente” y “Pobre” que depende de la distancia euclídea entre el centro de la fovea estimado y el real (d_{E-R}), obtenido a partir del Ground Truth, y que se detalla a continuación:

- Excelente: la distancia euclídea entre el centro de la fovea estimado y el real (d_{E-R}) es menor de 0,25 veces el radio del DO.
- Bueno: La distancia d_{E-R} está comprendida entre 0,25 y 0,5 veces el radio del DO.
- Aceptable: La distancia d_{E-R} está comprendida entre 0,5 y 1 vez el radio del DO.
- Pobre: La distancia d_{E-R} es superior al radio del DO.

Los resultados considerados como válidos serán los correspondientes al intervalo “Excelente - Aceptable”. En la Figura 6 es posible observar este intervalo válido sobre una imagen real.

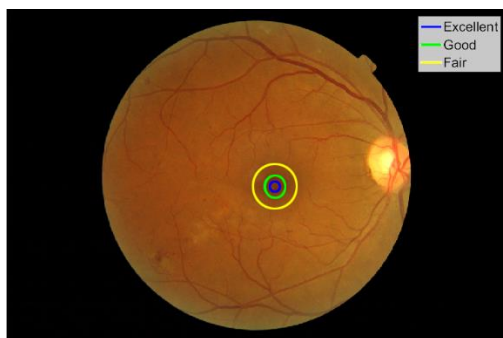


Figura 6. Áreas correspondientes a la escala empleada para evaluar los resultados.

3. Resultados

Con el objetivo de poder validar de manera exhaustiva el método detallado en este artículo se lleva a cabo una comparativa con el trabajo propuesto por A. Aquino [9]. Este método en un primer lugar obtiene una estimación del

centro de la mácula ajustando una parábola a los vasos sanguíneos, y desplazando 2,5 veces el diámetro del DO por su eje de simetría (que se corresponde con el *rafe* horizontal de la retina). Posteriormente se trabaja tanto con la componente roja como con la componente verde de la imagen, para obtener de forma precisa el centro de la fovea a partir de una ROI centrada en el punto central estimado.

Tras obtener el resultado de la segmentación de la fovea por medio del algoritmo propuesto y el método descrito en [9] se aplica la técnica de evaluación detallada en la sección 2.2 obteniendo los resultados que se muestran en las Tablas 1 y 2. En la primera de ellas se puede observar el número de imágenes resultantes en cada uno de los descriptores de calidad definidos anteriormente para los dos métodos de segmentación de la fovea. Estos mismos resultados, pero en forma porcentual se presentan en la segunda tabla.

Nº Imágenes	Excelente	Bueno	Aceptable	Pobre
Método propuesto	1095	29	1	1
A. Aquino [9]	639	140	211	146

Tabla 1. Comparación de los métodos según la calidad de la segmentación de la fovea (atendiendo a la escala propuesta) para las imágenes de la BBDD de MESSIDOR

Porcentaje (%)	Excelente	Bueno	Aceptable	Pobre
Método propuesto	96.3908	2.5528	0.0880	0.9683
A. Aquino [9]	56.2500	12.323	18.5739	12.852

Tabla 2. Comparación porcentual de los métodos según la calidad de la segmentación de la fovea (atendiendo a la escala propuesta) para las imágenes de la BBDD de MESSIDOR.

Por último, considerando como válidos los resultados correspondientes al intervalo “Excelente - Aceptable”, en la Tabla 3 se detalla el porcentaje de estimaciones válidas obtenidas por cada uno de los dos métodos

Método propuesto	A. Aquino [9]
99.0317%	87.1479%

Tabla 3. Porcentaje de resultados aceptados como válidos

Se comprueba por tanto que empleando el método propuesto para la segmentación de la fovea se obtienen unos resultados muy prometedores, alcanzando un porcentaje de éxito superior al 99%, porcentaje bastante superior al 87% de segmentaciones válidas obtenidas con el método descrito en [9]. Además, se observa que el porcentaje de resultados “Excelentes” es bastante elevado.

Otra comparativa de los resultados se lleva a cabo mediante el cálculo de la distancia euclídea media y el error de localización normalizado (calculado como la distancia entre la fovea real y la estimada dividida entre el radio medio del DO). Los resultados correspondientes a esta comparativa se observan en la Tabla 4 y plasman de nuevo una mayor precisión en la segmentación por parte del método propuesto.

	\overline{ED}	\overline{D}
Método propuesto	0.0530	5.7017 pxs.
A. Aquino [9]	0.2067	22.2201 pxs.

Tabla 4. Distancia euclídea media (medida en píxeles) y error de localización normalizado que presentan ambos métodos

Por último, en la Figura 7 se presenta una comparativa en términos de coste computacionales y/o tiempos de ejecución de cada método, así como de los pasos o tareas que conforman el algoritmo.

Function Name	Calls	Total Time	Self Time*	Total Time Plot (dark band = self time)
script_extractFovea	1	62.640 s	0.524 s	
save_fovea_nofotos	1	62.027 s	1.042 s	
realce_nounif	1	46.838 s	0.786 s	
mediablk	1	44.709 s	44.709 s	
areaopen	2	7.703 s	1.507 s	
hwareaopen	512	6.019 s	2.045 s	

(a)

Function Name	Calls	Total Time	Self Time*	Total Time Plot (dark band = self time)
script_detectFovea_sf	1	120.849 s	0.004 s	
foveaDetection_sf	1	120.845 s	0.139 s	
parabolas_sf	1	114.502 s	10.517 s	
morphop	868	101.716 s	0.592 s	
indilate	842	101.515 s	0.156 s	
morphmex (MEX-file)	868	93.514 s	93.514 s	

(b)

Figura 7. Tiempo de ejecución en MATLAB de cada algoritmo y de las funciones pertenecientes a los mismos. (a) Método propuesto. (b) A. Aquino [9].

Como se puede observar en la Figura 7, el paso que mayor coste computacional conlleva en el método propuesto es el del realce no uniforme del contraste, mientras que en [9] se trata del ajuste parabólico que da lugar a la primera estimación del lugar dónde se encuentra la fovea. Como se puede apreciar, el algoritmo propuesto es prácticamente el doble de rápido que [9].

4. Conclusiones

Analizando los resultados detallados en la sección anterior, se puede afirmar que el algoritmo propuesto obtiene un mayor número de segmentaciones de la fovea válidas en comparación con el método presentado en [9]. Además, acumula un menor error de localización normalizado, así como una menor distancia media entre el centro real y el estimado. Destacar también que, en el apartado temporal, el algoritmo presentado es más rápido que el de [9]. Por lo tanto, es posible concluir que empleando el método propuesto se obtiene un mayor éxito en la detección automática de la fovea.

En el presente trabajo se ha propuesto un método de segmentación de la mácula basado en el descrito en [8] obteniendo un algoritmo bastante robusto para este fin. Para validarlo se ha llevado a cabo una exhaustiva comparativa, empleando la base de datos MESSIDOR, con otro método propuesto en la literatura [9].

Como principal línea futura a este trabajo se propone la implementación de un sistema que, a partir del centro de la mácula, sea capaz de detectar acumulaciones de drusas alrededor de la misma, ya que estas lesiones son el síntoma más evidente de padecer DMAE.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) bajo el proyecto ACRIMA (TIN2013-46751-R). El trabajo de <Autor1> ha sido financiado bajo la ayuda FPI BES-2014-067889.

Referencias

- [1] Duanggate C, Uyyanonvara U. A review of automatic drusen detection and segmentation from retinal images. *ISBME*, vol. 3, 2008, pp. 222-225.
- [2] C. Sinthanayothin, J. Boyce, H. Cook, T. Williamson, "Automated localization of the optic disc, fovea, and retinal blood vessels from digital colour fundus images", *Br. J. Ophthalmol*, vol. 83, pp. 902-910, 1999.
- [3] L. Gagnon, M. Lalonde., M. Beaulieu, M.-C. Boucher, "Procedure to detect anatomical structures in optical fundus images", *Proc. SPIE Med. Imaging: Image Process*, vol. 4322, pp.1218-1225, 2001.
- [4] H. Li, O. Chutatape, "Automated feature extraction in color retinal images by a model based approach", *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 51, pp. 246-254, 2004.
- [5] K. Tobin, E. Chaum, V. Govindasamy, T. Karnowski, "Detection of anatomic structures in human retinal imagery", *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 26, pp. 1729-1739, 2007.
- [6] M. Niemeijer, M. D. Abràmoff, B. van Ginneken, "Segmentation of the optic disc, macula and vascular arch in fundus photographs", *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 26, pp. 116-127, 2007.
- [7] M. Niemeijer, M. D. Abràmoff, B. van Ginneken, "Fast detection of the optic disc and fovea in color fundus photographs", *Med. Image Anal.* vol.13, pp. 859-870, 2009.
- [8] Welfer D, Scharcanski J, Marinho DR, Fovea center detection based on the retina anatomy and mathematical morphology. *Medical Imaging IEEE Transactions*, vol. 32, 2013, pp. 786-796.
- [9] Aquino A, Establishing the macular gridding grid by means of fovea centre detection using anatomical-based and visual-based features, *Computers in Biology and Medicine*, vol 55, 2014, pp. 61-73.
- [10] Decencièrre E, Zhang X, Cazuguel G, Lay B, Cochener B, Trone C, Gain R, Ordonez R, Massin P, Erginay A, Charton B, Klein JC, Feedback on a publicly distributed database: the MESSIDOR database. *Image Analysis & Stereology*, vol. 33, 2014, pp. 231-234.
- [11] Walter T, Massin P, Erginay A, Ordonez R, Jeulin C, Klein JC, Automatic detection of microaneurysms in color fundus images. *Medical Image Analysis*, vol 11, Issue 6, 2007, pp. 555-566.
- [12] Morales S, Naranjo V, Angulo J, Alcañiz M, Automatic detection of optic disc based on PCA and mathematical morphology, *Medical Imaging IEEE Transactions*, vol. 32, 2013, pp.786-796.

Diagnóstico Automático del Glaucoma a través de la Segmentación y Análisis de la Copa Óptica Usando Imágenes de Fondo de Ojo

A. Diaz¹, S. Morales^{1,2}, V. Naranjo^{1,2}, P. Alcocer^{2,3} y A. Lanzagorta^{2,3}

¹ Instituto de Investigación e Innovación en Bioingeniería, I3B, Universitat Politècnica de València, Camino de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain. { andiapin,sanmomar,vnaranjo }@upv.es

² Grupo Tecnologías de Informática Aplicadas a la Oftalmología, Unidad Conjunta UPV- FISABIO, Spain.

³ FISABIO Oftalmología Médica, 46015 Valencia, Spain

Resumen

*El glaucoma es una enfermedad asintomática ocular que se caracteriza por la pérdida de visión periférica. Actualmente, es considerada la segunda causa de ceguera a nivel mundial. En este trabajo se presenta un sistema de diagnóstico automático del glaucoma usando imágenes de fondo de ojo que se basa principalmente en características anatómicas del nervio óptico como son la posición de los vasos sanguíneos y la forma de la copa óptica. Como primer paso, se segmenta la copa óptica usando diferentes espacios de color y la transformada watershed estocástica. Posteriormente, se miden diferentes características como el ratio copa-disco (CDR) y la regla ISNT (Inferior>Superior>Nasal>Temporal), que distinguen un ojo normal de un ojo glaucomatoso. Este método ha sido evaluado usando 726 imágenes (374 sanas y 352 glaucomatosas) logrando unos resultados prometedores (especificidad de 0,77 y sensibilidad de 0,70) usando el espacio de color *luv* y la característica CDR.*

1. Introducción

El glaucoma es una de las principales causas de ceguera en la actualidad a nivel mundial [1]. Consiste en un conjunto de procesos en los que la presión intraocular elevada produce lesiones que afectan fundamentalmente al nervio óptico, provocando una pérdida de campo visual que puede llegar a ser total si el proceso no se detiene. Sin embargo, la detección precoz y un control y tratamiento adecuados pueden impedir la progresión de la enfermedad. El disco óptico es la zona circular donde termina el nervio óptico en la retina. El disco óptico puede dividirse en dos zonas importantes, la copa óptica que es la zona más brillante dentro del disco óptico y el anillo neuroretiniano que rodea la copa óptica. En la figura 1(a) se pueden ver las diferentes partes del disco óptico. El daño causado al nervio óptico debido al glaucoma se manifiesta en un cambio en la apariencia de la copa óptica, por lo que su tamaño está relacionado con la presencia o ausencia de glaucoma. En la Figura 1(b) y Figura 1(c) se muestra la diferencia que existe entre un fondo de ojo sano y uno glaucomatoso.

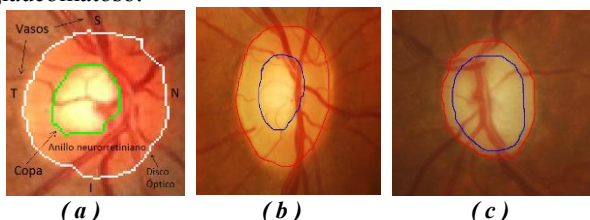


Figura 1. Imagen de fondo de ojo: (a) Principales estructuras del disco óptico en una imagen de fondo de ojo (b) Ojo sano y (c) Ojo glaucomatoso. En rojo marcado el disco óptico y en azul la copa óptica.

En base a esto, este trabajo se centra en desarrollar e implementar un algoritmo que clasifique pacientes en sanos y sospechosos de padecer glaucoma a partir del análisis automático de imágenes de fondo de ojo. Este sistema automático de cribado podría ayudar al abaratamiento de gasto de tiempo en personal experimentado, permitiendo de este modo aumentar la población participante. Las técnicas más usadas para la detección del glaucoma son el estudio de la relación entre la copa y el disco óptico y la regla ISNT [2]. La relación entre la copa y el disco consiste en analizar si el tamaño de la copa es relevante en función del tamaño del disco óptico. Para ello, se realiza el cociente entre el diámetro de ambos (CDR) o bien entre sus áreas (ACDR) dando lugar a un valor entre 0 y 1, el cual es mayor en pacientes con glaucoma. La regla ISNT se basa en comprobar en cuál de las cuatro partes del anillo neuroretiniano (Inferior, Superior, Nasal o Temporal) hay mayor concentración de fibras nerviosas. Un ojo sano cumple que $I > S > N > T$. Estas tres características permiten analizar de manera cuantitativa el avance del Glaucoma en un paciente y por lo tanto ayudan a la clasificación de las imágenes en sanas y glaucomatosas.

Del estado del arte se pueden encontrar trabajos que también usan imágenes de la retina para detectar el glaucoma, como por ejemplo en [3], se usa el método *level-set* para segmentar el disco y la copa. Otra técnica desarrollada divide la imagen en superpíxeles para luego su clasificación [4]. Por otro lado está la técnica de segmentación *r-bends* que usa los *bends* o dobleces de los vasos para segmentar la copa y luego aplicar la transformada Hough para generar la máscara de la copa [5]. Finalmente, un trabajo para resaltar es el sistema ARGALI que mide automáticamente el ratio de los diámetros verticales del disco óptico y la copa [3].

Este trabajo está enfocado en el diagnóstico automático del Glaucoma usando el CDR, ACDR y la regla ISNT. Además, se propone un nuevo método automático de segmentación de la copa usando el algoritmo de *watershed* estocástico y se analizan diferentes espacios de color para mejorar rendimiento de la segmentación.

2. Material

El material empleado para este trabajo han sido imágenes de 6 bases de datos diferentes, 4 de ellas públicas (DRIVE [6], HRF [7], RIM-One [8] y DRISHTI [9]) y otras dos privadas (12Octubre [10] y Autogla).

	Normal	Glaucoma	Total
DRIVE	20	20	40
HRF	27	18	45
RIM-One	194	261	455
DRISHTI	32	18	50
12Octubre	29	24	53
Autogla	50	33	83
	374	352	726

Tabla 1. Bases de datos usadas para la validación del sistema

Combinando las bases de datos anteriores, se cuenta con un total de 726 imágenes clasificadas por especialistas (352 con glaucoma o sospechosas y 374 sanas). Aparte de las imágenes originales, de cada imagen también se cuenta con los *ground truth* del disco óptico y de la copa óptica proporcionados por especialistas.

3. Método

A continuación, en la Figura 2 se presenta el diagrama de bloques completo del sistema de diagnóstico desarrollado. Posteriormente se describirán cada uno de los bloques, siendo la segmentación de la copa óptica la base fundamental del algoritmo.

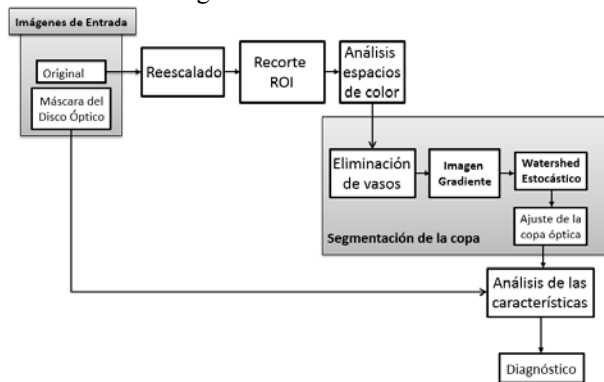


Figura 2. Diagrama de bloques del sistema de diagnóstico automático del glaucoma

3.1 Reescalado de las imágenes

El reescalado de las imágenes es el primer paso de este algoritmo. Debido a las diferencias de resolución entre las imágenes en las bases de datos disponibles, este paso es importante en la comparación de los resultados obtenidos. Todas las imágenes han sido reescaladas usando como referencia la resolución media de las imágenes (768 x 576 píxeles). Para el reescalado de las imágenes, ha sido utilizado el método de interpolación bicúbica.

3.2 Determinación de la región de interés (ROI).

Las características necesarias para la clasificación de un fondo de ojo como normal o glaucomatoso deben calcularse en el disco óptico. Por lo tanto, se recortan las imágenes alrededor del disco para trabajar sólo sobre esa región (Figura 4(a)). Este recorte se realiza con el objetivo de reducir el coste computacional. Para la detección del disco óptico se ha utilizado el método propuesto en [11].

3.3 Análisis de espacios de color

Después de establecer la región de interés, el siguiente paso es analizar qué espacio de color presenta mejor rendimiento en la segmentación de la copa óptica. Es por esto que se analizaron las distintas componentes de los espacios de color CMYK, YIQ, Luv, Lab y PCA. En la Figura 3 se muestran diferentes componentes de los espacios de color analizados.

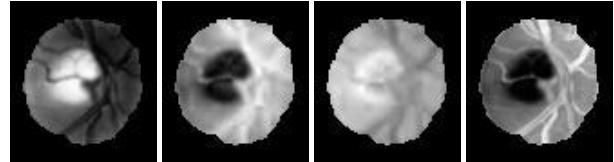


Figura 3. Diferentes componentes de espacios de color analizados para el sistema desarrollado. (a) Segunda componente del PCA, (b) Componente v del espacio de color luv, (c) Componente Q de YIQ y (d) componentes C+K del espacio de color CMYK.

Es posible ver también en la Figura 3 que la copa es más oscura o más clara que el fondo. El sistema desarrollado se basa principalmente en este patrón en el que supone la imagen en escala de grises como una superficie topográfica en la que copa sería la parte más baja o alta de la superficie. Resultados cuantitativos del análisis de los espacios de color serán presentados en la sección Resultados.

3.4 Segmentación de la copa óptica

El bloque de segmentación de la copa está dividido principalmente en 3 fases: eliminación de vasos, transformación *watershed* estocástica y el bloque que ajusta la posición de la copa.

La razón de eliminar los vasos en el interior del disco es para evitar que los bordes de los vasos sean confundidos por el método como bordes de la copa y resulte en una segmentación incorrecta. Para poder eliminarlos se aplica la técnica conocida como *inpainting* [12]. Los vasos son detectados haciendo uso de un algoritmo de *clustering* llamado *K-means* [13] que agrupa los datos en clases basándose en un criterio de similitud. Una vez se han detectado, se rellena la zona segmentada desde la frontera hacia el centro del vaso sustituyendo el valor del píxel por la intensidad media calculada en un pequeño vecindario alrededor de los píxeles de la frontera de manera iterativa.

Una vez eliminados los vasos, el paso más importante en la detección de la copa es el uso de la transformada *watershed* [14]. En ella, los mínimos de la imagen representan los objetos de interés y los máximos corresponden a las fronteras de separación entre los objetos. Por ello, la entrada de esta transformada suele ser una imagen de gradiente. Uno de los problemas de este método es la sobresegmentación debida a la aparición de zonas con ruido que pueden dar lugar a numerosos mínimos locales. Una solución consiste en indicar de manera artificial los mínimos de la imagen. Cada mínimo dará lugar a una región. Por otro lado, para evitar el problema de la subsegmentación al limitar el número de marcadores, se hace uso de una variante de la transformada *watershed* conocida con el nombre de *watershed*

estocástica [15]. En dicha variante se lanza un número N de marcadores controlados M veces para generar una función de densidad de probabilidad (*pdf*) de los contornos de la imagen. Sin embargo, no sólo se necesitan marcadores que especifiquen el objeto de interés (internos) sino también marcadores que limiten la zona a ser segmentada (externos). Dado que es un bloque fundamental del sistema y que determina el rendimiento del mismo, sus parámetros variables fueron cuidadosamente determinados. Parámetros como la varianza de la función que genera los marcadores aleatorios y el número de marcadores aleatorios. Para este trabajo y debido al rendimiento que se obtiene, los marcadores internos se generaron aleatoriamente entre los píxeles que tengan una varianza menor de 0.1 y mayor a 0.003 respecto al pixel de menor o mayor intensidad dependiendo del espacio de color. Y se usó un rango de marcadores de entre 10-15 a 400-500 marcadores.

Como marcador externo se utilizó el borde del disco óptico, ya que la copa siempre está contenida en su interior. Para segmentar la copa se realizaron 5 simulaciones de la transformada *watershed* variando cada vez los dos parámetros (varianza y número de marcadores). Sobre la *pdf* resultante, se realiza una última tirada de marcadores aleatorios y se ejecuta la transformada final donde cada marcador interno ha dado lugar a una región de la imagen. La unión de todas las regiones detectadas compondrá la máscara de la copa.

En la figura 4 se pueden ver los resultados de aplicar la transformada *watershed* para segmentar la copa.

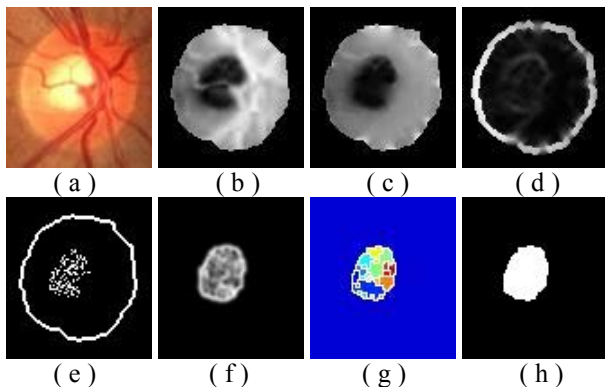


Figura 4. Proceso de la transformada estocástica *watershed*: (a) Imagen cortada en la región de interés (b) Imagen en escala de grises, (c) Resultado de la eliminación de vasos, (d) Imagen gradiente, (e) Marcadores pseudo-aleatorios, (f) Imagen *pdf* de contornos, (g) Regiones *watershed* y (h) Máscara final.

El bloque que ajusta la posición de la copa se implementó para corregir los posibles errores de posición de la máscara de la copa introducidos por la transformada estocástica *watershed*. De esta manera se hace el sistema más robusto incrementando el rendimiento del mismo. Para ello, tras obtener la máscara por medio de la transformada estocástica *watershed*, se genera un círculo de igual área y se posiciona en el centro del disco óptico. Con este ajuste de la máscara de la copa se tiene en cuenta la posición geométrica de la copa que en la mayoría de casos se encuentra donde emergen los vasos en la retina.

En la Figura 5 se puede ver la línea blanca que representa el disco óptico, la línea amarilla que representa

el resultado de la segmentación usando la transformación estocástica *watershed*, la línea azul representa el ajuste de la copa y la línea verde el *ground truth* de la copa.

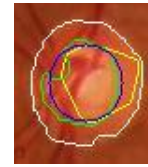


Figura 5. Imagen resultado del ajuste de la copa óptica cuando la transformada estocástica *watershed* introduce error.

4 Diagnóstico del Glaucoma

El método automático propuesto en este trabajo usa como medidas para la detección del glaucoma la relación entre los diámetros verticales del disco y la copa o *cup-to-disc-ratio* (CDR), la relación del área entre el disco y la copa o ACDR y la regla ISNT (Inferior > Superior > Nasal > Temporal). Estas características se pueden obtener una vez que la copa ha sido segmentada.

Para establecer los umbrales de CDR y ACDR que determinen cuando un paciente sufre de Glaucoma, se calcularon los CDR y ACDR de todas las imágenes *ground truth*. De esta manera se establece el umbral para el CDR y el ACDR como el promedio de estos valores. Los valores obtenidos fueron para el CDR: 0.50 y para el ACDR: 0.20. La aplicación de la regla ISNT se llevó a cabo calculando el grosor vertical y horizontal del anillo neuroretiniano como:

$$\begin{aligned} \text{Horizontal} &= \text{Temporal} + \text{Nasal} \\ \text{Vertical} &= \text{Inferior} + \text{Superior} \end{aligned}$$

Para luego clasificar las imágenes como glaucomatosas si el grosor horizontal es mayor que al grosor vertical.

5 Resultados

Para medir el rendimiento del sistema se usaron las 6 bases de datos. Primero se optimizaron los parámetros usados en la transformación *watershed* estocástica obteniendo los resultados mostrados en la Figura 6. Luego se analizó el rendimiento de los espacios de color CMYK, YIQ, Luv, Lab y PCA usando los índices de Jaccard y Dice. Finalmente se analizó todo el sistema usando como medidas de rendimiento la sensibilidad y especificidad.

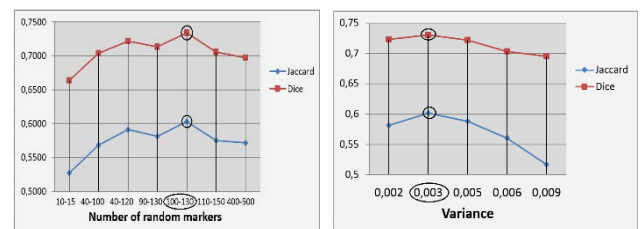


Figura 6. Análisis de la segmentación de la copa usando el espacio de color CMYK. (a) Resultados para diferentes rangos de marcadores aleatorios (con varianza=0.003) y (b) resultados para diferentes valores de varianza usando el rango de marcadores 100-130

5.1 Resultados de la segmentación de la copa

Para el análisis de los diferentes espacios de color se tuvieron en cuenta las siguientes componentes debido a que la copa presenta un mayor contraste con respecto al

resto de la imagen: las componentes **C** y **K** del espacio de color CMYK, componente **Q** del espacio de color YIQ, componente **v** en el espacio de color Luv, la componente **a** de Lab y la segunda componente del PCA. Esta comparación se hizo para todas las imágenes de las bases de datos y se midió el rendimiento usando los índices Jaccard y Dice. Los mejores resultados son mostrados en la Tabla 2. Estos se obtuvieron haciendo uso de los parámetros optimizados anteriormente.

	CMYQ	YIQ	Luv	Lab	PCA
Jaccard	0.52	0.52	0.53	0.48	0.42
Dice	0.65	0.66	0.67	0.61	0.56

Tabla 2. Resultados del análisis de los espacios de color

5.2 Especificidad y Sensibilidad

En la Tabla 3 se presentan la sensibilidad (S) y especificidad (E) de los espacios de color con mejor rendimiento en la segmentación de la copa CMYQ, YIQ y Luv, y para las diferentes características CDR, ACDR y regla ISNT. De estos resultados se puede ver que el espacio de color Luv presenta un mejor rendimiento para la segmentación de la copa y el diagnóstico del glaucoma.

	CMYQ		YIQ		Luv	
	E	S	E	S	E	S
CDR	0.72	0.60	0.71	0.60	0.77	0.70
ACDR	0.59	0.73	0.54	0.71	0.66	0.80
ISNT	0.64	0.68	0.62	0.69	0.60	0.70

Tabla 3. Diagnóstico del Glaucoma usando el CDR, ACDR y la regla ISNT. (E es la Especificidad y S es la Sensibilidad)

6 Conclusiones y Trabajo Futuro

En este trabajo se ha presentado un sistema automático de diagnóstico del glaucoma que usa la transformación estocástica *watershed* para segmentar la copa óptica a partir de imágenes de fondo de ojo y se analizó sus resultados sobre varios espacios de color. El sistema se basa en el CDR, el ACDR y la regla ISNT para clasificar a un sujeto como sano o glaucomatoso. Se observó que el espacio de color Luv presenta un mejor rendimiento para segmentar la copa, y que los mejores resultados del sistema se obtuvieron basándose solamente en el cálculo del CDR, logrando una especificidad **0.77** y una sensibilidad de **0.70**. Este rendimiento es debido a que hay imágenes donde la copa no aparece definida. Esto presenta una complejidad mayor tanto para el clínico como para el sistema automático desarrollado. Por esto, como trabajo futuro es interesante explorar otras técnicas de segmentación que se basen no sólo en la intensidad de la copa sino también en la textura, como por ejemplo usando diccionarios y representación *Sparse*.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad de España, proyecto ACRIMA (TIN2013-46751-R). El trabajo de Andrés Díaz ha sido financiado por la Generalitat Valenciana por medio

de la beca Santiago Grisolia (GRISOLIA/2015/027). Los autores agradecen el apoyo dado por el Servicio de Oftalmología de Hospital 12 de Octubre de Madrid y al Departamento de Electrónica de la Universidad de Alcalá por facilitarnos el acceso a su base de datos.

Referencias

- [1] "Bulletin of the world health organization," <http://www.who.int/bulletin/volumes/82/11/feature1104/en/>, Accessed: 2016-01-14.
- [2] Khan, F., Khan, S., Yasin, U., Ul Haq, I., Qamar, U. Detection of glaucoma using retinal fundus images. *Biomedical Engineering International Conference*, 2013. Pages 1-5.
- [3] Wong D. W. K., Liu J., Lim J.H., Jia X., Yin F., Li H., and Wong T. Y., "Level-set based automatic cup-to-disc ratio determination using retinal fundus images in ARGALI," in 30th Annual International IEEE EMBS Conference, Vancouver, British Columbia, Canada, 2008.
- [4] Cheng J., Liu J., Xu Y., Yin F., Wong D. W. K., Tan N., Tao D., Cheng C., Aung T., and Wong T. Y., "Superpixel classification based optic disc and optic cup segmentation for glaucoma screening," *IEEE TRANSACTIONS ON MEDICAL IMAGING*, vol. 6, no. 32, 2013.
- [5] Joshi G. D., Sivaswamy J., and Krishnadas S. R., "Optic disk and cup segmentation from monocular color retinal images for glaucoma assessment," *IEEE TRANSACTIONS ON MEDICAL IMAGING*, vol. 30, no. 6, 2011.
- [6] "Drive: Digital retinal images for vessel extraction," <http://www.isi.uu.nl/Research/Databases/DRIVE/>, Accessed: 2016-01-14.
- [7] Köhler, T., Automatic no-reference quality assessment for retinal fundus images using vessel segmentation, *Proceedings of the 26th IEEE International Symposium on Computer-Based Medical Systems*. (2013.) 95-100.
- [8] Medina-Mesa E., Gonzalez-Hernandez M., Sigut J., Fumero-Batista F., Pena-Betancor C., Alayon S., de la Rosa M. G., Estimating the amount of hemoglobin in the neuroretinal rim using color images and OCT., *Current Eye Research*.
- [9] Sivaswamy J., Krishnadas S., Joshi G. D., Jain M., Ujjwal, A. S. T., Drishti-GS: Retinal image dataset for optic nerve head (ONH) segmentation. 2014 IEEE 11th International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI). (2014.) 53-56.
- [10] Morán R., Barea Navarro R., Boquete Vázquez L., López Guillén E., Campos Pavón J., de Pablo Gómez de Liaño L., Escot Bocanegra D., de Santiago L., and Ortiz M., "Color analysis in retinography: Glaucoma image detection," in XIII Mediterranean Conference on Medical and Biological Engineering and Computing 2013, vol. 41 of IFMBE Proceedings, pp. 325-329, 2014.
- [11] Morales S., Naranjo V., Angulo J., and Alcañiz M., "Automatic detection of optic disc based on PCA and mathematical morphology," *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 32, no. 4, pp. 786-796, April 2013.
- [12] Bertalmio M., Sapiro G., Caselles V., and Ballester C., "Image inpainting," *Proceedings of the 27th annual conference on Computer graphics and interactive techniques*, 2000.
- [13] MacQueen, J. Some methods for classification and analysis of multivariate observations. *In Proc. of the fifth Berkeley Symposium on Mathematical Statistics and Probability*, 1967, volume 1, pages 281-297.
- [14] Beucher S. and Meyer F., *Mathematical Morphology in Image Processing*, New York: Marcel Dekker, 1992.
- [15] Angulo, J. and Jeulin, D. Stochastic watershed segmentation. *Proc. of the 8th International Symposium on Mathematical Morphology*, 2007, pages 265-279.

Análisis de los depósitos de hierro en el cerebro mediante imágenes de resonancia magnética como posible biomarcador de la enfermedad de Alzheimer

C. Pastor¹, A. Jiménez², M. Peralta², M. A. Rienda¹, M.J. Corrales¹, G. Bueno²

¹ Radiodiagnóstico y Neurología, Hospital General Universitario de Ciudad Real, España

² VISILAB Group, E.T.S. Ingenieros Industriales, UCLM, Ciudad Real, España, {Ana.JimenezMoya, Gloria.Bueno}@uclm.es

Resumen

Este estudio analiza el hierro depositado en ciertas estructuras cerebrales como posible biomarcador para un diagnóstico precoz de la enfermedad de Alzheimer (EA), bajo la hipótesis de que cuanto mayores son los depósitos de hierro en determinadas regiones, más alta es la probabilidad de padecer la enfermedad. Se han analizado estos depósitos mediante resonancia magnética, utilizando el tiempo de relajación transversal T2; este tiempo es más corto cuanto mayor es la sobrecarga férrica, permitiendo medir de forma indirecta la presencia de hierro. Los resultados preliminares sugieren que el hierro puede ser efectivamente un indicador precoz de la evolución de la EA.*

1. Introducción

La EA es la principal causa de demencia en la actualidad, afectando a 40 millones de personas en todo el mundo, 600.000 en España. Se estima además que solo un 20% de los enfermos son diagnosticados en estadios leves de la enfermedad, existiendo hasta un 40% de afectados sin detectar [1]. Actualmente, el diagnóstico se aborda en base a una batería de tests neuropsicológicos que se le hace al paciente sospechoso de padecer EA. Un diagnóstico precoz permitiría mejorar la calidad de vida de los pacientes y sus familiares, puesto que aunque no existe una cura para la EA, sí existen fármacos capaces de paliar los síntomas cognitivos, conductuales y funcionales e, incluso, de estabilizarlos durante meses.

Para ayudar en esta detección precoz, se han considerado distintos enfoques. Una alternativa al método de los tests neuropsicológicos ha sido identificar biomarcadores que permitan detectar la EA de forma poco invasiva y precoz; los biomarcadores más destacados bajo estudio son la Proteína Precursora Amiloide (APP), el péptido beta-amiloide (A β), las proteínas tau y p-tau, los isoprostanos, marcadores de inflamación y distintas técnicas de imagen médica [2]. En este último grupo se enmarca este trabajo.

Hay evidencias de que pacientes con EA tienen niveles de hierro elevados en áreas corticales, subcorticales y materia blanca del cerebro afectadas por la EA [3, 4]. Análisis de resonancia magnética (RM) revelan que niveles de hierro elevados en el hipocampo, una estructura relevante que se ve afectada de manera temprana en casos de EA, tiene una correlación negativa con los resultados en los test de memoria [5]. Para analizar esta correlación, se han utilizado estudios de RM

de pacientes sanos o controles, con deterioro cognitivo leve (DCL) y con EA, y en ellos se ha tratado de identificar los depósitos de hierro. Hay que tener en cuenta que la clasificación de los pacientes en cada uno de los tres grupos puede ser inexacta, puesto que se basa en el análisis neuro-psicológico que, como se ha indicado, puede descartar demencias en estadios leves. Pese a esto, se ha tomado el resultado de los tests como *ground truth* o criterio de referencia. Se analizarán biomarcadores bioquímicos, como el péptido A β , el glutamato, y la ferritina en sangre, buscando una posible relación con los depósitos de hierro en el cerebro medidos en imagen.

A continuación se describe el método implementado y las conclusiones obtenidas.

2. Materiales y métodos

El estudio se ha realizado utilizando imágenes de RM en formato DICOM, sin contraste a 1.5T, adquiridas en el Hospital General Universitario de Ciudad Real (Philips Intera 1.5T), con grosor de corte de 6mm. El protocolo utilizado ha sido Fast Field Echo (FFE) con tiempos de eco (TE) 4.6 y 9.2ms ($TE_2 = 2 \cdot TE_1$), en los planos axial y coronal, tomando 20 cortes para cada plano.

Inicialmente se cuenta con 6 pacientes (4 mujeres, 2 hombres), de los cuales 1 presenta EA (hombre, 74 años) y 5 DCL ($65,8 \pm 6,9$ años), y con 1 control sano (mujer, 72 años). La información detallada de cada sujeto se recoge en la Tabla 1.

Para llevar a cabo este análisis de los depósitos de hierro mediante técnicas de imagen, se ha desarrollado una herramienta gráfica que permite trabajar con los estudios de RM de cada paciente y analizar cada estructura en los distintos cortes en los que está presente. Este software se ha implementado en Matlab, utilizando el entorno de diseño de interfaces gráficas GUIDE [6].

Con el objetivo de ampliar la investigación, además del hipocampo, las siguientes áreas se han considerado para el estudio: caudado, núcleo lenticular (pálido y putamen), tálamo, amígdala y núcleo rojo. En la Figura 1 se muestra el contorno de cada una de estas estructuras y su situación dentro de los cortes; todas las regiones se han marcado en los cortes axiales, excepto el hipocampo que se localiza mejor en vista coronal.

ID	Edad	Sexo	Grupo
1	72	M	Control
2	64	M	DCL
3	66	M	
4	68	M	
5	75	H	
6	56	M	
7	74	H	EA

Tabla 1: Detalle de los diez sujetos participantes en el estudio. DCL: deterioro cognitivo leve; EA: enfermedad de Alzheimer.

La delimitación de las estructuras se realiza de manera automática dentro del software. Esto se lleva a cabo para todos los cortes, mediante registro elástico de las imágenes respecto de un paciente de referencia, previamente marcado de forma manual por un radiólogo. Es posible modificar la limitación de las regiones de forma manual dentro de la herramienta para corregir posibles errores del marcado automático.

La RM ha sido evaluada en múltiples trabajos dirigidos a analizar la sobrecarga férrica (depósitos de hierro) en el hígado y el corazón, con buenos resultados [7]. Para realizar esta medición, existe un método indirecto llamado relaxometría, que proporciona el valor de T2* o tiempo de relajación transversal a partir de secuencias de eco de gradiente; este tiempo será más corto cuanto mayor sea la sobrecarga férrica. La fórmula para calcular este tiempo de relajación es la siguiente [8]:

$$T2^* = \frac{TE_1 - TE_2}{\ln(I_2/I_1)}$$

donde TE_1, TE_2 , son los tiempos de eco e I_1, I_2 , la intensidad de la señal en cada una de las imágenes que se está comparando.

Si se cumple la hipótesis, cuando el paciente estudiado esté sano, los valores de la intensidad de señal serán muy próximos, por lo que tendremos valores de T2* altos; por el contrario, en pacientes con alguna demencia, habrá una variación de brillo en la imagen, lo que dará valores de T2* inferiores. Por ello, debería ser posible establecer un valor umbral para determinar en cuál de los casos nos encontramos; si fuese así, se podría establecer que los depósitos de hierro son marcadores de la enfermedad.

El software implementado se va a aplicar voxel a voxel dentro de cada estructura. Para evaluar los resultados, se van a utilizar dos enfoques: por un lado, estableciendo un umbral de T2* a priori, calcular el porcentaje de voxels dentro de cada región que superan el umbral; por otro lado, aplicar medidas estadísticas al conjunto de voxels de cada región.

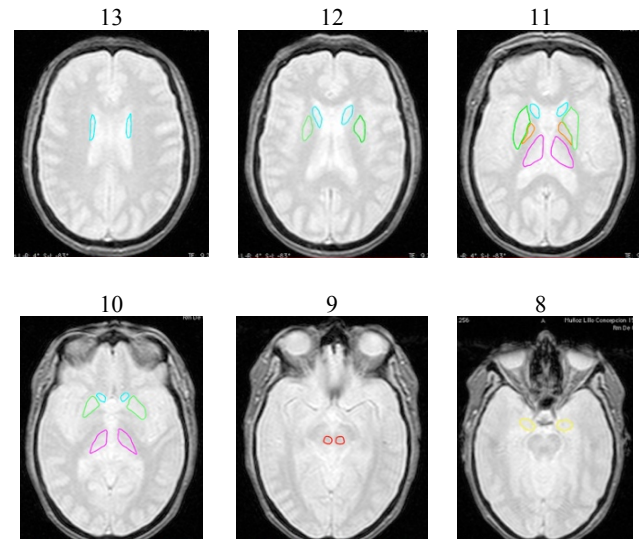
Los parámetros considerados se resumen a continuación:

- Media: valor promedio de los valores de T2* obtenidos para toda la región.

- Desviación estándar: medida del grado de dispersión de los valores de T2* de toda la región respecto de la media.
- Mediana: valor de T2* de posición central en el conjunto ordenado de los resultados de todos los voxels.
- Percentil 25 y 75: valor de T2* por debajo del cual se encuentran el 25% y el 75% respectivamente de todos los valores de T2* obtenidos para la región.
- Curtosis o apuntamiento: medida de la forma de la distribución; en esencia, valores de curtosis altos indican una distribución ‘apuntada’ o con valores concentrados en torno a la media.
- Skewness o asimetría: medida de la asimetría de la distribución. Si toma un valor negativo, la distribución se alarga hacia valores menores que la media; una asimetría igual a cero indica que la distribución se adapta a la forma de una campana de Gauss.

Estas medidas se han calculado para cada corte en el que se localiza cada región, y posteriormente en valor medio para todos los cortes, aproximando así al cálculo en el volumen total de cada estructura.

Cortes axiales:



Cortes coronales:

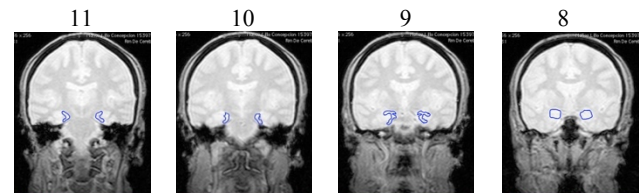


Figura 1. Regiones bajo estudio en cada corte: caudado (cian), putamen (verde), globo pálido (naranja), tálamo (rosa), núcleo rojo, amígdala cerebral (amarillo) e hipocampo (azul).

3. Resultados

La herramienta se ha estructurado en dos pantallas; en la primera (Figura 2) se visualizan de forma conjunta las imágenes correspondientes a los dos tiempos de eco junto con las ROIs delimitadas, siendo posible navegar por los distintos cortes del estudio. En la cabecera de la interfaz encontramos información relativa al paciente: número de identificación, edad y fecha de la adquisición de las RM. En la parte derecha de la pantalla se encuentran las operaciones que se pueden realizar: selección de un nuevo paciente, delimitación automática o manual de las ROI, exportado de las regiones marcadas en todos los cortes, de tal manera que cuando se quiera estudiar el mismo paciente no sea necesario volver a generarlas, y, finalmente, comparación, que es la opción que dirige a la segunda pantalla de la herramienta.

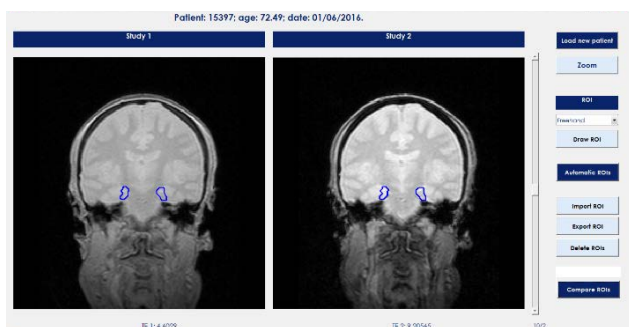


Figura 2. Pantalla 1 de la herramienta gráfica. Navegación corte a corte por los estudios del paciente seleccionado. ROI mostrada: hipocampo, corte 10 vista coronal.

En la segunda ventana (Figura 3) se muestra el detalle de la ROI delimitada anteriormente, para los dos tiempos T2. Por otro lado, se calcula el valor de T2* voxel a voxel; para mostrar este resultado de forma gráfica, se establece un umbral (30ms inicialmente, modificable), visualizando en verde los voxels con T2* por encima del mismo y en rojo los que están por debajo. Se observa que en los voxels rojos se localizarían depósitos de hierro, mientras que los voxels verdes indicarían que no hay hierro. La distribución de valores de T2* en los voxels se recoge en la gráfica de la zona inferior de la pantalla: en negro valores por debajo del umbral marcado, en verde, por encima. A la izquierda de la interfaz encontramos información del paciente y del corte analizado, así como los parámetros estadísticos calculados para la estructura y el área estimada, datos que podemos guardar en una hoja de cálculo de MS Excel.

Una vez implementado este software, se ha utilizado para analizar las imágenes de los 7 sujetos disponibles. A continuación se describen los resultados que en este estudio preliminar parecen más prometedores, a la espera de completarlo con más pacientes.

La medida que confirmaría la hipótesis, porcentaje de voxels con T2* por encima de un umbral, solo mostró el comportamiento esperado para una de las estructuras analizadas, el caudado; en la Figura 4 se aprecia cómo para el paciente control prácticamente el 100% de los voxels superan el umbral, es decir, el valor de T2* es alto en la mayor parte de los voxels. Por el contrario, en el

caso de los sujetos afectados, un porcentaje de los voxels queda por debajo del umbral, indicando valores menores de T2*. Aunque son valores próximos, en general por encima de 90% de superación del umbral, sería posible establecer un umbral de discriminación para el corte 12 o para el valor en promedio.

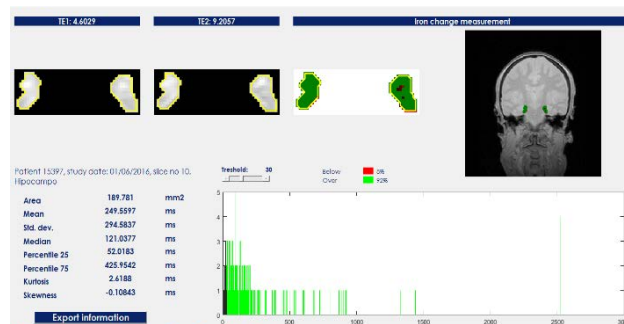


Figura 3. Pantalla 2 de la herramienta gráfica. Comparación de la ROI con distintos tiempos T2, cálculo del tiempo T2*, del área y de los parámetros estadísticos. ROI mostrada: hipocampo, corte 10 vista coronal.

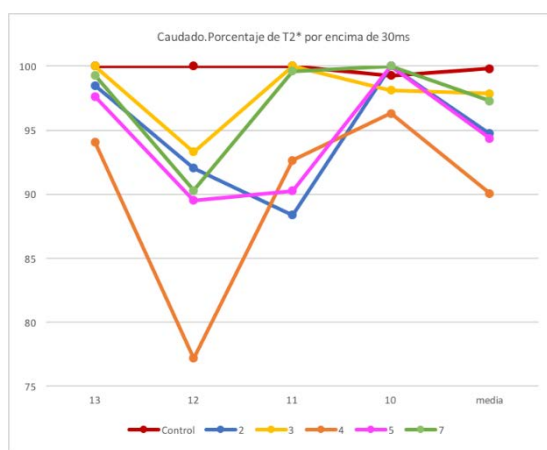


Figura 4. Caudado. Porcentaje de voxels con T2* por encima del umbral 30ms (cuatro cortes y en promedio).

Los valores medios obtenidos de T2* en cada estructura no son determinantes para ninguna de ellas excepto la desviación estándar, de nuevo, en el caso del caudado, en el que es menor para casi todos los cortes que para los pacientes, como se aprecia en la Figura 5. Esto indicaría que los valores de T2* presentan mayor dispersión respecto a la media en el caso de sufrir demencia.

Esta medida se ve corroborada por los resultados de la curtosis. En la Figura 6 se aprecia que para tres cortes y en promedio, el apuntamiento o concentración respecto a la media en el sujeto sano es mayor que para el resto. Ocurre lo mismo para el tálamo.

El último parámetro estadístico que muestra diferencias entre pacientes es el percentil 75, menor para el sujeto sano en el caso de dos estructuras: caudado y putamen, como se muestra en la Figura 7. El primer caso viene corroborado por la asimetría positiva (la distribución se alarga hacia valores mayores que la media) que muestran casi todos los cortes y la media en el caso del caudado (ver Figura 8). En este caso, para dos de los cortes y en valor promedio sería posible establecer un umbral de

discriminación entre el paciente 7 (EA) y el resto (DCL). Esta base de datos está siendo ampliada actualmente.

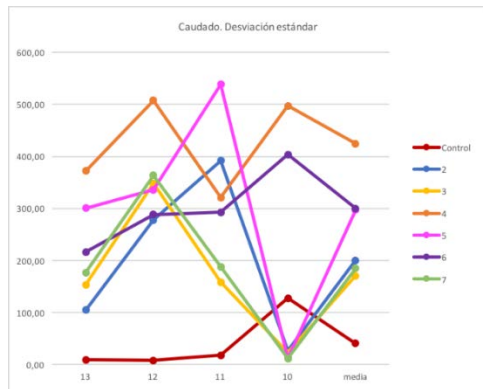


Figura 5. Caudado. Desviación estándar (cuatro cortes y en promedio).

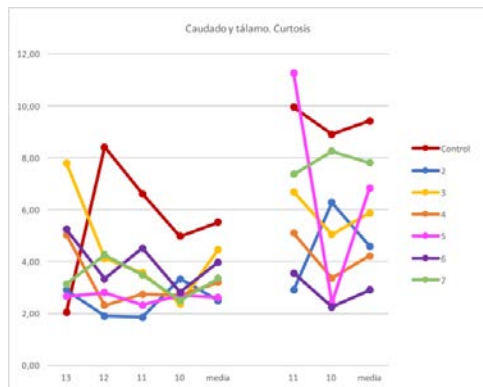


Figura 6. Caudado y tálamo. Curtosis o apuntamiento, para los cuatro cortes del caudado, los dos del tálamo y en promedio para las dos estructuras.

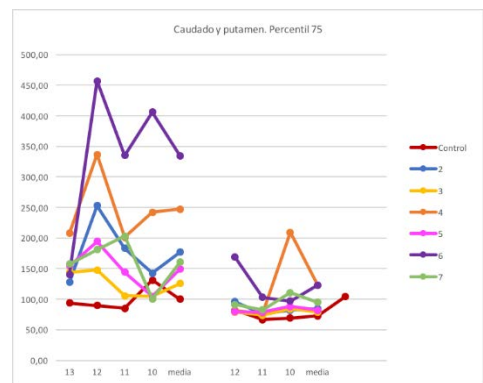


Figura 7. Caudado y putamen. Percentil 75, para los cuatro cortes del caudado, los tres del putamen y en promedio para las dos estructuras.

4. Conclusiones

Tras haber realizado este estudio preliminar, el análisis de resultados indica que el hierro efectivamente podría tratarse de un marcador de la enfermedad: se han encontrado diferencias significativas para algunas estructuras, principalmente el caudado, entre el sujeto sano o control y los pacientes que presentan demencia. Es pronto para establecer si es posible además diferenciar con alguna de las medidas seleccionadas entre pacientes de EA y de DCL.

El trabajo se encuentra todavía en fase de ejecución, dado que la muestra inicial es demasiado pequeña para ser concluyente. La base de datos de pacientes está siendo ampliada actualmente. Se espera poder corroborar que el hierro en ciertas estructuras del cerebro puede ser un indicador precoz de la evolución de la EA.

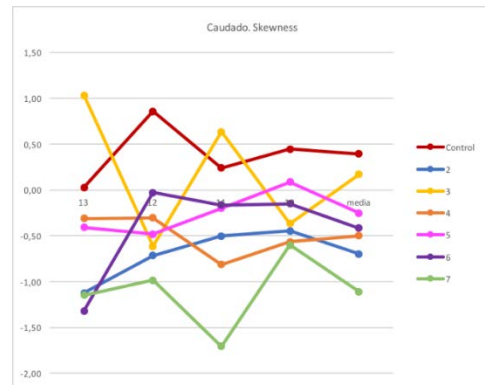


Figura 8. Caudado. Skewness (cuatro cortes y en promedio).

Agradecimientos

Este proyecto está siendo desarrollado con el apoyo económico de la Junta de Castilla-La Mancha, España (proyecto PPII-2014-008).

Referencias

- [1] Nota de prensa de la Sociedad Española de Neurología, «La EA en España», 16 septiembre 2015.
- [2] Craig-Schapiro R, Fagan AM, Holtzman DM. Biomarkers of Alzheimer's disease. *Neurobiol. Dis.*, vol 35, n.º 2, 2009, pp. 128-40.
- [3] Raven EP, Lu PH, Tishler TA, et al. «Increased iron levels and decreased tissue integrity in hippocampus of AD detected in vivo with magnetic resonance imaging. *J. Alzheimers. Dis.*, vol 37, n.º 1, 2013, pp. 127-36.
- [4] Connor JR, Menzies SL, St. Martin SM, et al. A histochemical study of iron, transferrin, and ferritin in Alzheimer's diseased brains. *J. Neurosci. Res.*, vol 31, n.º 1, 1992, pp. 75-83.
- [5] Ding B, Chen KM, Ling HW, et al. Correlation of iron in the hippocampus with MMSE in patients with alzheimer's disease. *J. Magn. Reson. Imaging*, vol 29, n.º 4, 2009, pp. 793-8.
- [6] Página web de MathWorks España, «GUI de MATLAB». <http://es.mathworks.com/discovery/matlab-gui.html>. (Consultada: septiembre 2016).
- [7] Barrera Portillo MC, Uranga Uranga M, Sánchez González J, et al. Medición del T2* hepático y cardíaco en la hemocromatosis secundaria. *Radiología*, vol 55, n.º 4, 2013, pp. 331-9.
- [8] Pepe A, Positano V, Santarelli MF, et al. Multislice multiecho T2* cardiovascular magnetic resonance for detection of the heterogeneous distribution of myocardial iron overload. *J. Magn. Reson. Imaging*, vol 23, n.º 5, 2006, pp. 662-8.

Señales Biomédicas 3

Viernes 25 de Noviembre

Cuantificación de la Variabilidad de la Amplitud de la Onda T Mediante Técnicas de Re-parametrización Temporal

J. Ramírez García^{1,2}, M. Orini³, J. D. Tucker⁴, E. Pueyo Paules^{2,1}, P. Laguna Lasaosa^{2,1}

¹ Centro de Investigación Biomédica en Red- Biomedicina, Biomateriales y Nanotecnología, Zaragoza, España

² Biomedical Signal Interpretation and Computational Simulation group, Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón, IIS Aragón, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España, Julia.Ramirez@unizar.es

³ Institute of Cardiovascular Science, University College London, London, UK,

⁴ Sandia National Laboratories, Albuquerque, NM, USA

Resumen

Los cambios de amplitud de onda T reflejan la dispersión de la repolarización y, por lo tanto, el riesgo arritmico, pero pueden confundirse con diferencias en el dominio temporal. Nuestro objetivo es encontrar un marcador de variabilidad de amplitud de onda T, independiente de la variabilidad en el dominio temporal. Primero, comparamos la capacidad de dos algoritmos de re-parametrización para eliminar la variabilidad temporal, uno utiliza las ondas T originales y otro usa una transformada basada en la derivada (SRSF). Después, comparamos la robustez frente al ruido de dos marcadores de variabilidad de amplitud, d_y y d_a , después de re-parametrizar. d_y y d_a se calculan en el dominio SRSF y utilizando las ondas T originales, respectivamente. Finalmente, usamos el marcador más robusto para medir la variabilidad de amplitud producto de una prueba de "Tilt". El algoritmo de re-parametrización preferido fue el SRSF porque no está afectado por diferencias en la amplitud de las ondas T. Además, d_a demostró ser más robusto que d_y . El análisis de registros de electrocardiograma mostró que d_a era significativamente menor durante el "Tilt" que en posición supina (-5.5% vs. 6.5%, $p < 0.01$). En conclusión, d_a cuantifica de forma robusta las variaciones fisiológicas de la amplitud de la onda T, demostrando su potencial para ser usado como predictor de riesgo arritmico en la práctica clínica.

1. Introducción

La onda T del electrocardiograma (ECG) refleja la heterogeneidad espacio-temporal de la repolarización del miocardio ventricular y su duración y amplitud se usan para diagnosticar patologías cardíacas y evaluar el riesgo a sufrir arritmias malignas [1]. Variaciones en dichas heterogeneidades de la repolarización están asociadas con mayor riesgo arritmico [2], y esto motiva la cuantificación de las variaciones de amplitud de la onda T. Sin embargo, las mismas heterogeneidades de la repolarización, u otras situaciones fisiológicas como cambios en el ritmo cardíaco, pueden inducir también variaciones en el dominio temporal (como ensanchamientos y translaciones de la onda T) que pueden mezclarse con la variabilidad en el dominio de la amplitud. Esto motiva la búsqueda de un marcador robusto de variabilidad de amplitud de la onda T que sea independiente de la variabilidad temporal subyacente. El algoritmo de deformación del dominio temporal más tradicional es el "dynamic time warping" (DTW) [3], que realiza una proyección muestra a muestra

de dos ondas T mediante la minimización de la distancia Euclídea entre ellas. DTW proporciona una función de re-parametrización que puede ser utilizada para eliminar la variabilidad temporal presente en las ondas T originales. Recientemente se propuso una variante de DTW basada en una transformada basada en la raíz cuadrada de la derivada de las señales, (SRSF, del inglés "square-root slope function") [4, 5]. La transformación SRSF proporciona igualdades matemáticas básicas que dan lugar a una solución formal del problema de la variabilidad temporal. En este contexto, se definió un marcador de variabilidad de amplitud, d_y , como la distancia Euclídea de la diferencia entre las SRSFs de las ondas T.

El primer objetivo de este trabajo es comparar el rendimiento de los algoritmos de re-parametrización DTW y SRSF para eliminar la variabilidad en el dominio temporal. Después, proponemos un nuevo bio-marcador de variabilidad de amplitud de la onda T, d_a , y comparamos su robustez frente a ruido Laplaciano aditivo con la de d_y , después de eliminar la variabilidad temporal subyacente con el algoritmo de re-parametrización preferido. Finalmente, utilizamos el marcador con la mayor robustez para medir la variabilidad de amplitud inducida por una prueba de "Tilt".

2. Métodos

2.1. Cuantificación de Variabilidad de Amplitud

Sean $f^r(\mathbf{t}^r) = [f^r(t^r(1)), \dots, f^r(t^r(N_r))]^T$ y $f^s(\mathbf{t}^s) = [f^s(t^s(1)), \dots, f^s(t^s(N_s))]^T$ dos ondas T, donde $\mathbf{t}^r = [t^r(1), \dots, t^r(N_r)]^T$ y $\mathbf{t}^s = [t^s(1), \dots, t^s(N_s)]^T$, y N_r y N_s son la duración total de \mathbf{t}^r y \mathbf{t}^s , respectivamente. Sea $f^r(\mathbf{t}^r)$ la onda T de referencia y $f^s(\mathbf{t}^s)$ la onda a ser comparada con $f^r(\mathbf{t}^r)$.

Sea $\gamma(\mathbf{t}^r)$ la función de re-parametrización que relaciona \mathbf{t}^r y \mathbf{t}^s , de forma que la composición $f^s(\gamma(\mathbf{t}^r))$ denota la re-parametrización, o deformación del dominio temporal, de $f^s(\mathbf{t}^s)$ usando $\gamma(\mathbf{t}^r)$, i.e. $f^s(\gamma(\mathbf{t}^r))$ representa los valores de amplitud de $f^s(\mathbf{t}^s)$ si su dominio temporal fuera \mathbf{t}^r . Entonces, el algoritmo DTW encuentra la función de re-parametrización óptima, $\gamma_w^*(\mathbf{t}^r)$, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\boldsymbol{\gamma}_w^*(\mathbf{t}^r) = \underset{\boldsymbol{\gamma}(\mathbf{t}^r)}{\operatorname{argmin}}(\|\mathbf{f}^r(\mathbf{t}^r) - \mathbf{f}^s(\boldsymbol{\gamma}(\mathbf{t}^r))\|). \quad (1)$$

La SRSF de una onda T, $\mathbf{f}(\mathbf{t})$, se define de la siguiente manera [4, 5]:

$$\mathbf{q}_f(\mathbf{t}) = \operatorname{sign}(\dot{\mathbf{f}}(\mathbf{t})) \sqrt{|\dot{\mathbf{f}}(\mathbf{t})|} \quad (2)$$

Si re-parametrizamos $\mathbf{f}(\mathbf{t})$ con $\boldsymbol{\gamma}(\mathbf{t})$, entonces la SRSF de $\mathbf{f}(\boldsymbol{\gamma}(\mathbf{t}))$ es: $\mathbf{q}_f(\boldsymbol{\gamma}(\mathbf{t}))\sqrt{\dot{\boldsymbol{\gamma}}(\mathbf{t})}$. Teniendo esto en cuenta, el algoritmo de re-parametrización SRSF define la función óptima de re-parametrización como la función que minimiza la distancia Euclídea de la diferencia entre las SRSF de las señales originales, obteniendo, así, una función de reparametrización transformada, denotada como $\boldsymbol{\gamma}_{TW}^*(\mathbf{t}^r)$:

$$\boldsymbol{\gamma}_{TW}^*(\mathbf{t}^r) = \underset{\boldsymbol{\gamma}(\mathbf{t}^r)}{\operatorname{argmin}}(\|\mathbf{q}_{f^r}(\mathbf{t}^r) - \mathbf{q}_{f^s}(\boldsymbol{\gamma}(\mathbf{t}^r))\sqrt{\dot{\boldsymbol{\gamma}}(\mathbf{t}^r)}\|) \quad (3)$$

Ahora, usando la función de re-parametrización óptima, podemos definir dos marcadores de variabilidad de amplitud, independientes de la variabilidad en el dominio temporal subyacente:

$$d_y = \operatorname{sign}(e_y) \frac{\overbrace{\|\mathbf{q}_{f^r}(\mathbf{t}^r) - \mathbf{q}_{f^s}(\boldsymbol{\gamma}_{TW}^*(\mathbf{t}^r))\sqrt{\dot{\boldsymbol{\gamma}}_{TW}^*(\mathbf{t}^r)}\|}^{v_y}}{\|\mathbf{q}_{f^r}(\mathbf{t}^r)\|} \times 100, \quad (4)$$

$$e_y = \sum_{n=1}^{N_r} v_y(n).$$

$$d_a = \operatorname{sign}(e_a) \frac{\overbrace{\|\mathbf{f}^r(\mathbf{t}^r) - \mathbf{f}^s(\boldsymbol{\gamma}_{TW}^*(\mathbf{t}^r))\|}^{v_a}}{\|\mathbf{f}^r(\mathbf{t}^r)\|} \times 100, \quad (5)$$

$$e_a = \sum_{n=1}^{N_r} v_a(n).$$

2.2. Pre-procesado de señal

El pre-procesado de las señales ECG incluyó filtrado paso bajo a 40 Hz para eliminar ruido eléctrico y muscular pero permitir detección de QRS, interpolación por splines cúbicos para eliminar la línea de base y detección de latidos ectópicos. Se aplicó Análisis de Componentes Principales sobre las ondas T de todas las derivaciones para aumentar su energía, mejorar su delineación y enfatizar las diferencias morfológicas [6].

Las ondas T de la primera componente principal se delimitaron usando las marcas de delineación de inicio y final de onda T [7]. De nuevo, se filtró paso bajo cada onda T a 20 Hz para eliminar aquellas componentes que pudieran corromper la forma original de la onda.

2.3. Estudio de simulación

En este estudio, evaluamos el rendimiento de los marcadores de variabilidad de amplitud de onda T, d_y y

d_a , para detectar las variaciones de amplitud de onda T. Para ello, se simuló variaciones de tiempo y amplitud de onda T bajo la presencia de distintos niveles de ruido aditivo.

Sea $\mathbf{f}^r(\mathbf{t}^r)$ la onda T de referencia, extraída de un latido sin ruido, muestreado a 1 kHz.

Modelamos la variabilidad de amplitud de la onda T i -ésima multiplicando sus desviaciones de la línea isométrica por una envolvente sinusoidal de la siguiente manera:

$$\mathbf{f}_i^s(\mathbf{t}^r) = \mathbf{f}^r(\mathbf{t}^r) \cdot \left(1 + 0.25 \cdot \sin\left(\frac{\pi(i-1)}{I-1}\right)\right), \quad i = 1, \dots, I \quad (6)$$

Luego, introducimos la modulación del dominio temporal de la onda T i -ésima modificando el dominio temporal de $\mathbf{f}^r(\mathbf{t}^r)$ de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\mathbf{t}_i^s = \mathbf{t}^r(1) + (\mathbf{t}^r(N_r) - \mathbf{t}^r(1)) \cdot \left(\frac{\mathbf{t}^r - \mathbf{t}^r(1)}{\mathbf{t}^r(N_r) - \mathbf{t}^r(1)}\right)^{\alpha(i)}$$

$$\alpha(i) = \left(\frac{0.45(i-1)}{I-1} + 0.8\right), \quad i = 1, \dots, I \quad (7)$$

donde i indexa cada latido, e I es el número total de latidos modulados. Aunque en situaciones reales \mathbf{t}^r y \mathbf{t}_i^s no tendrían por qué tener la misma longitud, en esta simulación lo hemos asumido para ilustrar el efecto de la asimetría de la onda. El latido modulado i -ésimo se obtuvo transformando $\mathbf{f}^r(\mathbf{t}^r)$ en $\mathbf{f}_i^s(\mathbf{t}_i^s)$. Entonces, la señal de ECG simulada se obtuvo concatenando los $I=300$ latidos modulados detrás del latido de referencia. Esto dio lugar a una señal de ECG de 301 latidos. Después, se pre-procesó esta señal de ECG simulada, se detectaron los puntos fiduciales, se delinearon sus ondas y se delimitaron las ondas T siguiendo el algoritmo explicado en la sección 2.2. Finalmente, se obtuvieron las series de referencia $\mathbf{d}_a^r = [d_a^r(1), \dots, d_a^r(I)]$ y $\mathbf{d}_y^r = [d_y^r(1), \dots, d_y^r(I)]$ re-parametrizando cada $\mathbf{f}_i^s(\mathbf{t}_i^s)$ con respecto a $\mathbf{f}^r(\mathbf{t}^r)$, usando la ecuación (3) y aplicando las ecuaciones (4) y (5).

A continuación, añadimos de forma iterativa ruido Laplaciano de media nula a la señal de ECG simulada, de manera que la relación señal a ruido (SNR) era, en decibelios (dB): $SNR = \{5, 10, \dots, 35\}$. Las series estimadas $\mathbf{d}_a^{SNR} = [d_a^{SNR}(1), \dots, d_a^{SNR}(I)]$ y $\mathbf{d}_y^{SNR} = [d_y^{SNR}(1), \dots, d_y^{SNR}(I)]$ se obtuvieron comparando las ondas T de la señal de ECG modulada con ruido con la onda T de referencia con ruido, localizada en el primer latido. Por último, los errores de estimación de calcularon como:

$$e_d(SNR) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^I (d^{SNR}(i) - d^r(i))^2}{\sum_{i=1}^I (d^r(i))^2}} \times 100, \quad (8)$$

donde $d = \{d_y, d_a\}$. La generación del ruido y el cálculo de los valores de error relativo se repitieron 50 veces para obtener valores de error relativo robustos.

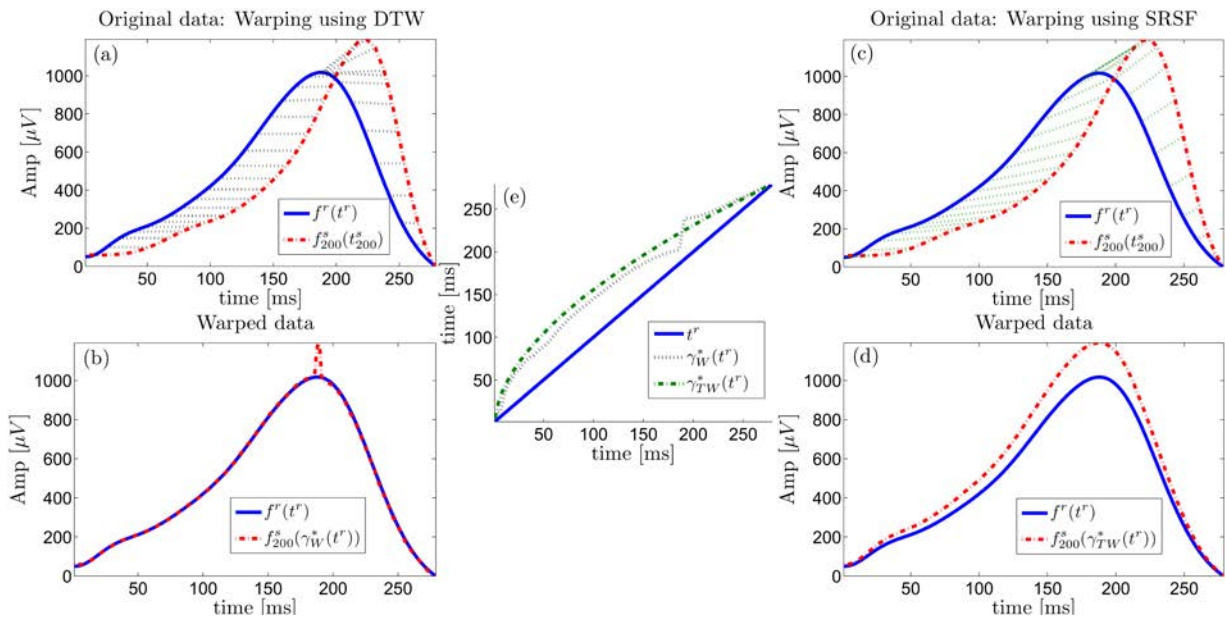


Figura 1. Comparación de los algoritmos de re-parametrización DTW y SRSF. Los paneles (a) y (c) muestran $f^r(t^r)$ (línea azul continua) y $f_{200}^s(t_{200}^s)$ (línea roja discontinua). Las líneas de puntos ilustran la relación entre t^r y t^s usando $\gamma_W^*(t^r)$ y $\gamma_{TW}^*(t^r)$, respectivamente (panel (e)). Los paneles (b) y (d) muestran $f_{200}^s(\gamma_W^*(t^r))$ y $f_{200}^s(\gamma_{TW}^*(t^r))$, respectivamente.

2.4. ECG real

Se analizaron registros de ECG de una base de datos adquirida en la Universidad de Zaragoza para el estudio del sistema nervioso autónomo (ANS-UZ) [8]. Se obtuvieron registros de 17 sujetos sanos (edad 28.5 ± 2.8 años, 11 hombres) sin historial clínico previo relacionado con enfermedades cardiovasculares. Cada registro contenía 8 derivaciones de ECG, muestreadas a 1 kHz, y se adquirieron durante una prueba de “Tilt” de 13 minutos (4 minutos en posición supina, 5 minutos a 70° , 4 minutos en posición supina).

Los registros de ECG se pre-procesaron y delinearon y se obtuvieron las series de d_y y d_a para cada sujeto comparando cada onda T su media.

Asumimos estacionariedad en tres intervalos, *supino inicial*, *Tilt*, y *supino final*, tal y como se hizo en [9]. Estos intervalos tenían una duración de 20 latidos y terminaban 30 segundos antes de cualquier transición durante la prueba de Tilt. Las diferencias significativas entre los valores medianos de RR y la mediana de d_a , calculados para cada intervalo, se evaluaron usando la prueba de “Wilcoxon signed-rank”.

3. Resultados y discusión

3.1. Estudio de simulación

La Figura 1 muestra un ejemplo de los algoritmos de re-parametrización DTW (ecuación (1)) y SRSF (ecuación (3)) para $i=200$ en el estudio de simulación. El panel (a) muestra $f^r(t^r)$ (línea azul continua) y $f_{200}^s(t_{200}^s)$ (línea roja discontinua), donde se pueden apreciar el escalado de amplitud (por un factor de 1.2) y la asimetría temporal ($\alpha(200) = 1.1$) introducidos. En este caso, se esperaba que el algoritmo de re-parametrización fuera capaz de corregir completamente la variabilidad en el dominio del tiempo, de manera que la onda T re-parametrizada debería ser una versión escalada de $f^r(t^r)$. Las líneas negras de

puntos en el panel (a) ilustran la re-parametrización de acuerdo a $\gamma_W^*(t^r)$ (panel (e)). La onda T re-parametrizada resultante, $f_{200}^s(\gamma_W^*(t^r))$, se muestra en el panel (b). Se puede observar cómo DTW produce una singularidad, o una re-parametrización no intuitiva, dando lugar a una onda T re-parametrizada deformada. Esto ocurre porque DTW compara los valores de amplitud en lugar de las características morfológicas de las ondas T (pendientes de subida/bajada, picos, etc). Por ejemplo, en el panel (a), $\gamma_W^*(t^r)$ enlaza el máximo de $f^r(t^r)$ con el primer punto de $f_{200}^s(t_{200}^s)$ con el mismo valor de amplitud, sin considerar si dicho punto es también un máximo. Los paneles (c) y (d) muestran el mismo procedimiento, pero usando el algoritmo de re-parametrización SRSF. SRSF se basa en la comparación de dos funciones transformadas proporcionales a la derivada de las señales originales. Esto supone que, junto con su término interno de regularización, $\sqrt{\gamma_{TW}^*(t^r)}$, SRSF consiga una re-parametrización característica-a-característica (líneas verdes de puntos, paneles (c) y (e)), dando lugar a una onda T re-parametrizada, $f_{200}^s(\gamma_{TW}^*(t^r))$, que es justo una versión escalada de $f^r(t^r)$, tal y como se esperaba. Por lo tanto, usaremos $\gamma_{TW}^*(t^r)$ como la función de re-parametrización óptima a lo largo de este documento.

La Figura 2 muestra la media \pm desviación estándar del error relativo entre d_a^{SNR} y d_a^r (azul), y d_y^{SNR} y d_y^r (rojo), para los distintos valores de SNR. Los valores de error relativo de d_y fueron mayores que los de d_a para todos los valores de SNR (Figura 2). Esto sucede porque la transformación en la que se basa SRSF, y utilizada para el cálculo de d_y (ecuación (4)), es proporcional a la derivada, por lo que enfatiza las componentes de alta frecuencia de la señal, resultando en estimaciones menos robustas ante la presencia de ruido aditivo.

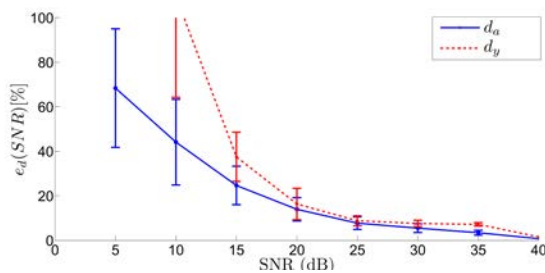


Figura 2. Error relativo entre las series de d_a (línea azul continua) y d_y (línea roja discontinua) de referencia y estimadas ante la presencia de ruido aditivo Laplaciano.

3.2. ECG real

Usamos el marcador d_a para medir la variabilidad de amplitud de onda T producida por una prueba de “Tilt”, después de corregir su variabilidad temporal con $\gamma_{TW}^*(t^r)$ ya que, como se ha mostrado previamente, $\gamma_{TW}^*(t^r)$ elimina eficientemente la variabilidad temporal subyacente, y d_a es más robusto frente al ruido que d_y .

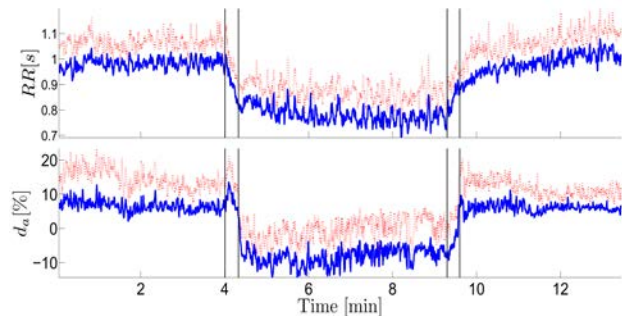


Figura 3. Mediana (azul) y mediana + desviación absoluta de la mediana (red) de las series de RR (panel superior) y d_a (panel inferior) durante una prueba de Tilt, calculadas a lo largo de los sujetos. Las líneas verticales indican el inicio y el final del cambio en la inclinación.

La mediana y mediana + desviación absoluta de la mediana de las series de RR y d_a resultantes, calculadas a lo largo de los sujetos, se muestran en la Figura 3. Puede observarse cómo la serie de d_a sigue la misma dinámica que la serie de RR, con valores negativos durante el Tilt, indicando que el estrés ortostático provoca una reducción de la amplitud de las ondas T. La Tabla 1 muestra cómo los valores medianos de RR y d_a fueron significativamente menores durante el “Tilt” que durante la posición supina.

	Supino inicial	Tilt	Supino final
RR [s]	1.01 (0.1)	0.77 (0.2)*	1.06 (0.2)†
d_a [%]	6.54 (14.5)	-5.54 (22.6)*	6.56(6.9)†

*Indica significativamente diferente ($p < 0.01$) con respecto a Supino inicial.

†Indica significativamente diferente ($p < 0.01$) con respecto a Tilt.

Tabla 1. Evolución temporal de la mediana (rango intercuartílico), calculada a lo largo de los sujetos, de RR y d_a durante una prueba de Tilt.

4. Conclusiones

Este trabajo propone un marco matemático para cuantificar la variabilidad de amplitud de la onda T, independiente de la variabilidad temporal subyacente. El algoritmo de reparametrización SRSF demostró ser

superior a DTW porque separa eficientemente las variabilidades de tiempo y amplitud presentes en dos ondas T. Comparando los dos marcadores de variabilidad de amplitud propuestos en este trabajo, d_a demostró ser más robusto frente al ruido que d_y . Finalmente, el índice d_a reflejó cambios significativos en la amplitud de la onda T como respuesta a una prueba de “Tilt”.

El valor predictivo de d_a se evaluará en estudios futuros para determinar su capacidad de mejorar o complementar a otros índices ya existentes [2, 10].

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado en parte por el proyecto TIN2013-41998-R del Ministerio de Economía y Competitividad, España, y por el Gobierno de Aragón, España y la Unión Europea a través del grupo BSICoS. Los cálculos se realizaron en la plataforma de alto rendimiento de cómputo NANBIOSIS ICTS, CIBER-BBN e I3A, Zaragoza, España. J. Ramírez agradece la contribución de D. Hernando revisando este documento.

Referencias

- [1] Burgess MJ. Relation of ventricular repolarization to electrocardiographic T wave-form and arrhythmia vulnerability. *Am J Physiol: Heart Circ Physiol*, vol 5, 1979, pp H391-H402.
- [2] Baumert M., Lambert GW., Dawood T., Lambert E.A., Esler M.D., McGrane M., Barton D. y Nalivaiko E. QT interval variability in body surface ECG: measurement, physiological basis, and clinical value: position statement and consensus guidance endorsed by the European Heart Rhythm Association jointly with the ESC Working Group on Cardiac Cellular Electrophysiology. *Europace*, 2016.
- [3] Vintsyuk TK. Speech discrimination by dynamic programming. *Cybernetics*, vol 4, 1968, pp 52-57.
- [4] Srivastava A., Wu W., Kurtek S., Klassen E. y Marron J.S. Registration of Functional Data Using Fisher-Rao metric. *arXiv:1103.3817v2[math.ST]*, 2011.
- [5] Tucker JD., Wu W., y Srivastava A. Generative models for functional data using phase and amplitude separation. *Computational Statistics and Data Analysis*, vol 61, 2013, pp 50-66.
- [6] Castells F., Laguna P., Sörnmo L., Bollmann A. y Roig J.M. Principal component analysis in ECG signal processing. *EURASIP Journal on Applied Signal Processing*, vol 2007, 2007, pp 98-119.
- [7] Martínez J.P., Almeida R., Olmos S., Rocha A.P. y Laguna P. A wavelet-based ECG delineator: evaluation on standard databases. *IEEE Trans Biomed Eng*, vol 51, 2004, pp 570-581.
- [8] Mincholé A., Pueyo E., Rodríguez J.F., Zacur E., Doblare M. y Laguna P. Quantification of restitution dispersion from the dynamic changes of the T-wave peak to end, measured at the surface ECG. *IEEE Trans Biomed Eng*, vol 58, 2011, pp 1172-1182.
- [9] Gil E., Orini M., Bailón R., Vergara J.M., Mainardi L. y Laguna P. Photoplethysmography pulse rate variability as a surrogate measurement of heart rate variability during non-stationary conditions. *Physiol Meas*, vol 31, 2010, pp 1271-1290.
- [10] Ramírez J., Monasterio V., Mincholé A., Llamado M., Lenis G., Cygankiewicz I., de Luna A.B., Malik M., Martínez J.P., Laguna P. y Pueyo E. Automatic SVM classification of sudden cardiac death and pump failure death from autonomic and repolarization ECG markers. *J Electrocardiol*, vol 48, 2015, pp 551-557.

Caracterización de pacientes con diferentes niveles de riesgo cardiovascular mediante diagramas de Poincaré

J. Rodríguez¹, A. Voss², P. Caminal^{3,5}, A. Bayés-Genis⁴, B.F. Giraldo^{1,3,5}

¹ Institut de Bioenginyeria de Catalunya (IBEC), Barcelona, España; bgiraldo@ibecbarcelona.eu

² Dept. of Medical Engineering and Biotechnology, University of Applied Sciences Jena, Germany

³ Dept. ESAII, EEBE, Universitat Politècnica de Catalunya (UPC), Barcelona, España

⁴ Cardiology Service, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, España

⁵ CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), España

Resumen

En este trabajo se propone caracterizar la dinámica no-lineal de los sistemas cardíaco, vascular y respiratorio a partir de los diagramas de Poincaré. Se han analizado 46 pacientes con cardiomiopatía isquémica (ICM) o dilatada (DCM), y 35 sujetos sanos. De acuerdo con su fracción de eyección ventricular izquierda (LVEF), los pacientes también fueron clasificados en un grupo de alto riesgo (HR: LVEF \leq 35%, 30 pacientes) y otro de bajo riesgo (LR: LVEF $>$ 35%, 16 pacientes). A partir de las señales electrocardiográfica, de flujo respiratorio y de presión sanguínea se han obtenido los datos relacionados con el tiempo entre latidos cardíacos (RR), entre valores máximos de presión sistólica (SBP), y la duración del ciclo respiratorio (T_{Tot}). Estas series temporales han sido representadas mediante los diagramas de Poincaré, y caracterizadas teniendo en cuenta su desviación a largo plazo (SD1) y su cambio instantáneo (SD2). De acuerdo con los resultados obtenidos, los parámetros de las series cardíaca y de presión sanguínea, relacionados con las diagonales longitudinales y transversales del diagrama de Poincaré, son los que mejor diferencian entre pacientes con HR vs LR. Para la clasificación de pacientes isquémicos vs dilatados, los mejores parámetros se obtuvieron a partir de las series respiratorias y están relacionados con las distancias de la desviación estándar a la línea de identidad. Los cambios en estas relaciones representan una mayor aceleración en la dinámica respiratoria de los pacientes con cardiomiopatía isquémica.

1. Introducción

Las patologías relacionadas con el sistema cardiovascular son una de las mayores causas de morbilidad y mortalidad especialmente en personas mayores. Una parte de estas enfermedades está relacionada con problemas estructurales o funcionales que producen alteraciones en la actividad ventricular. La clínica basa parte de sus análisis en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo para determinar el riesgo cardiovascular de un paciente [1,2].

Estudios realizados a partir del registro y procesado de señales relacionadas con los sistemas cardíaco, vascular y respiratorio permiten obtener parámetros para caracterizar estos sistemas. Existen diversas técnicas de medidas no-lineales para estudiar su comportamiento. El diagrama de Poincaré, llamado también diagrama de dispersión, es uno de los métodos más utilizados en el estudio de series temporales que representan estos procesos fisiológicos. Mediante este proceso los valores representados en el

tiempo se transportan a un diagrama de dispersión de dos dimensiones. Los valores son representados por la elipse que los envuelve. El diámetro longitudinal describe la desviación a largo plazo de estos valores, mientras que el diámetro transversal representa su cambio. Analizando la desviación estándar de estos diámetros se pueden cuantificar los cambios espontáneos y a largo plazo de la serie temporal analizada [3,4].

En este trabajo se propone, a partir de las series temporales que representan la actividad cardíaca (RR), vascular (SBP), y respiratoria (T_{Tot}), caracterizar la dinámica de estos sistemas mediante los diagramas de Poincaré. Para ello se analizan los parámetros obtenidos de los registros de pacientes clasificados a partir de la fracción de eyección, en bajo y alto riesgo cardiovascular, así como pacientes diagnosticados con cardiomiopatía isquémica o dilatada.

2. Material y métodos

2.1. Base de datos

Se estudiaron las señales ECG, de presión sanguínea y de flujo respiratorio de 46 pacientes diagnosticados con cardiomiopatía isquémica o dilatada y 35 sujetos sanos. Los registros de los pacientes se obtuvieron en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau de Barcelona, España, de acuerdo con el protocolo aprobado por el comité ético local. Las señales fueron registradas utilizando un sistema Portapres y un amplificador Porti 16-biosignal, a una frecuencia de muestreo de 1600 Hz [5]. Los registros de los sujetos sanos fueron obtenidos en el Instituto de Bioingeniería de Cataluña, usando un sistema de BIOPAC Systems Inc. MP150 para las señales cardíaca y respiratoria, y Finometer-Finapres Medical Systems para la señal de presión sanguínea. Todas las señales se registraron con las personas en reposo, en posición supino, durante 30 minutos.

De acuerdo con el diagnóstico clínico los pacientes fueron clasificados en 28 pacientes con cardiomiopatía isquémica (ICM) y 18 pacientes con cardiomiopatía dilatada (DCM). Igualmente, según el porcentaje de fracción de eyección ventricular izquierda (LVEF), estos pacientes se clasificaron en bajo riesgo (LR: LVEF $>$ 35%, 16 pacientes) y alto riesgo (HR: LVEF \leq 35%, 30 pacientes). Todos ellos presentaron un índice New York Heart

Association - NYHA ≥ 2 . La Tabla 1 presenta la información clínica relacionada con estos pacientes.

	LR	HR
Pacientes	16	30
DCM	6	12
ICM	10	18
Edad	62.25 \pm 13.28	66.56 \pm 9.20
Peso	75.31 \pm 15.10	80.83 \pm 15.98
BMI	27.25 \pm 3.92	28.46 \pm 4.89
NYHA	2.25 \pm 0.57	2.03 \pm 0.31
DVI	56.43 \pm 6.67	63.5 \pm 6.03
DA	44.43 \pm 5.04	47.43 \pm 6.58
ProBNP	1137.56 \pm 906.09	2298.3 \pm 3649.45
FEV	43.81 \pm 8.79	29.23 \pm 5.42

DCM = Cardiomiopatía dilatada; ICM = Cardiomiopatía isquémica; BMI = Índice de masa corporal; NYHA = New York Heart Association Index; DVI = Diámetro del ventrículo izquierdo; DA = Diámetro de la aurícula; ProBNP = péptido natriuretico cerebral; FEV = Fracción de eyección ventricular.

Tabla 1. Parámetros clínicos

2.2. Procesado de las señales

Las señales fueron pre-procesadas utilizando técnicas de filtrado y restauración, y eliminados los valores atípicos. Para cada registro se obtuvieron las siguientes series temporales: RR como el intervalo de tiempo entre dos ondas R consecutivas del ECG, SBP correspondiente al intervalo de tiempo entre dos valores consecutivos máximos de la presión sistólica, y T_{Tot} que representa el intervalo de tiempo de cada ciclo respiratorio. Estas series fueron obtenidas aplicando diferentes algoritmos para la localización de puntos máximos, cruces por cero y puntos de inflexión de las señales. Las series fueron remuestreadas a 1 Hz mediante interpolación lineal, y normalizadas con media 0 y desviación estándar 1. La figura 1 presenta un ejemplo de las señales analizadas y su correspondiente serie temporal.

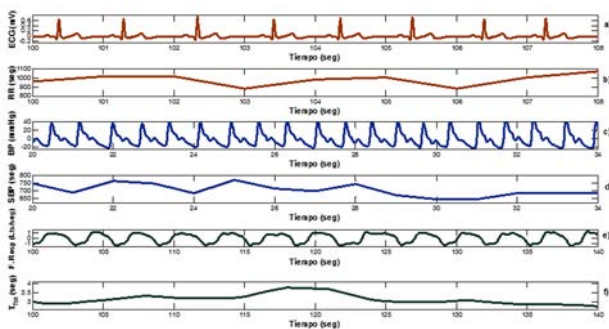


Figura 1. Representación de a) una señal ECG, b) la serie temporal RR, c) una señal de presión sanguínea, d) la serie temporal SBP, e) una señal de flujo respiratorio, y f) la serie temporal T_{Tot}

2.3. Diagrama de Poincaré

El diagrama de Poincaré es utilizado comúnmente para describir la auto-similaridad de un sistema complejo.

Permite también discernir entre un sistema caótico y uno aleatorio. La variabilidad del ritmo cardíaco puede ser analizada estudiando la morfología de estos diagramas [3,4,6,7].

Considerando una serie temporal $X = [x_1, x_2, x_3, \dots, x_N]$, con $i = 1, \dots, N$, el diagrama de Poincaré permite representar gráficamente la relación de los instantes de tiempo actual y siguiente, x_i y x_{i+1} , siendo $i=(1, \dots, N-1)$ [4]. La figura 2 presenta un ejemplo de la serie temporal RR de un paciente del grupo LR, otro del grupo HR, y un sujeto control.

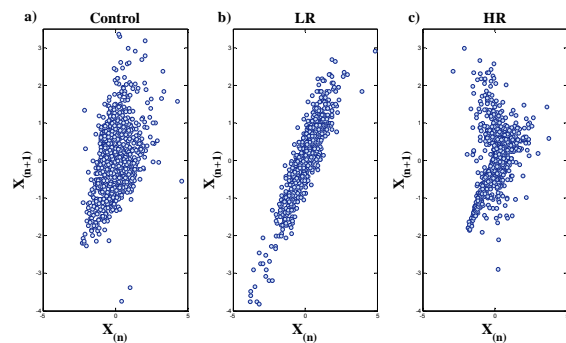


Figura 2. Diagramas de Poincaré de la serie temporal RR correspondientes a a) un paciente del grupo control, b) un paciente del grupo LR, y c) un sujeto del grupo HR.

La nube de puntos se ajusta a una elipse de la cual se obtienen los parámetros SD1 y SD2 asociados con las diagonales longitudinal y transversal. Estos parámetros se corresponden con las desviaciones estándar de los datos de la elipse, y describen la variabilidad a corto y largo plazo de estos [3,8,9]. SD1 y SD2 están definidos por las ecuaciones 1 y 2

$$SD1 = \frac{\sqrt{2}}{2} SD(x_n - x_{n+1}) \tag{1}$$

$$SD2 = \sqrt{2SD(x_n)^2 - \frac{1}{2}SD(x_n - x_{n+1})^2} \tag{2}$$

siendo SD la desviación estándar de la serie de datos.

La relación SD1 / SD2 representa el nivel de aleatoriedad de las series temporales, y ΔSD es un indicador de la forma de la elipse [3,6]. La línea de identidad en el diagrama de Poincaré corresponde a la línea donde los intervalos consecutivos de la serie son iguales. Los puntos por encima de la recta corresponden a una disminución del ritmo, mientras que los puntos por debajo corresponden a incrementos en los ritmos estudiados [4] (Figura 3).

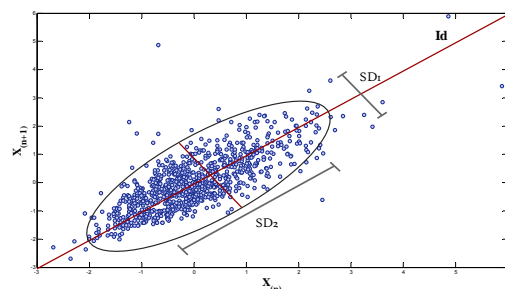


Figura 3. Caracterización del diagrama de Poincaré.

Con el fin de caracterizar las aceleraciones y desaceleraciones de los ritmos se introducen los parámetros C_{UP} y C_{DOWN} , respectivamente. Estos parámetros son calculados en base a la distancia de cada punto respecto a la línea de identidad (ecuaciones 3 y 4)

$$C_{UP} = \frac{SD_{UP}^2}{SD1^2} \quad (3)$$

$$C_{DOWN} = \frac{SD_{DOWN}^2}{SD1^2}, \quad (4)$$

siendo SD_{UP} y SD_{DOWN} las distancias de los puntos por encima y por debajo de la línea identidad, respectivamente (ecuaciones 5 y 6)

$$SD_{UP} = \frac{1}{n_{UP}} \sum_{i=1}^{n_{UP}} (D_{UP_i})^2 \quad (5)$$

$$SD_D = \frac{1}{n_D} \sum_{i=1}^{n_D} (D_{D_i})^2 \quad (6)$$

siendo D_{UP} y D_D las distancias entre los puntos por encima y por debajo y la línea de identidad. La Figura 4 describe gráficamente este proceso.

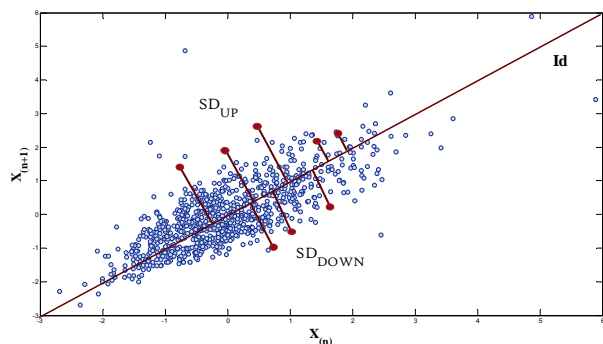


Figura 4. Representación gráfica de SD_{UP} y SD_D

Los parámetros LrC_{UP} y LrC_{DOWN} son calculados a partir de los parámetros C_{UP} y C_{DOWN} , sustituyendo la línea de identidad por una recta de regresión lineal ajustada a la serie de datos.

Finalmente la medida de correlación compleja (CCM) representa la variación punto a punto de la serie temporal [7,10]. Es un parámetro sensible a los cambios en la estructura temporal. Para su cálculo se han considerado 3 puntos consecutivos del diagrama (ecuación 7)

$$CCM = \frac{1}{C_n(N-2)} \sum_{i=1}^{N-2} ||A_i|| \quad (7)$$

siendo A_i el área del triángulo formado por los tres i -ésimo puntos, y C_n una constante de normalización definida como $C_n = \pi \cdot SD1 \cdot SD2$ [6].

La tabla 2 presenta los parámetros extraídos para cada serie temporal x , utilizando c para la serie RR, b para la serie SBP, y r para la serie T_{Tot} .

Parámetro	Descripción
$xSD1$	Desviación estándar a corto tiempo
$xSD2$	Desviación estándar a largo tiempo
$xSD1 / SD2$	Tasa entre desviaciones de corto y largo tiempo
$x\Delta SD$	Diferencia entre desviaciones estándar
xC_{UP}	Desaceleración normalizada
xC_{DOWN}	Aceleración normalizada
$xLrC_{UP}$	Desaceleración normalizada respecto a la regresión lineal
$xLrC_{DOWN}$	Aceleración normalizada respecto a la regresión lineal
$xCCM$	Medida de correlación Compleja

Tabla 2. Caracterización del diagrama de Poincaré

El test de Kolmogorov-Smirnov para la diferencia de medias fue utilizado para evaluar el poder estadístico de los parámetros extraídos para describir las patologías estudiadas, considerando un p -valor ≤ 0.05 , como estadísticamente significativo.

3. Resultados

Los sujetos fueron comparados considerando dos criterios: por patología y por riesgo. Por patología, se analizaron tres grupos: pacientes isquémicos y dilatados, y sujetos sanos. Por riesgo, se clasificaron en alto y bajo, de acuerdo con el riesgo de infarto cardíaco basado en la fracción de eyección ($LVEF \leq 35\%$). Adicionalmente se compararon los grupos de cada patología considerando la clasificación por riesgo.

Al comparar las características de los pacientes con el grupo control se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los grupos en los parámetros $SD1$, $SD2$, $SD1 / SD2$, $cLrC_{UP}$ y $cLrC_{DOWN}$ de la serie temporal RR; $SD1$, $SD2$, $SD1 / SD2$, bC_{UP} , bC_{DOWN} , $bLrC_{UP}$ y $bLrC_{DOWN}$ de la serie temporal SBP, y ΔSD de la serie temporal T_{Tot} (Tabla 3).

Parámetro	Pacientes	Control	p-valor
$cSD1$	0.75 ± 0.26	0.68 ± 0.13	0.017
$cSD2$	1.91 ± 0.05	1.93 ± 0.02	0.017
$cSD1/SD2$	0.39 ± 0.15	0.35 ± 0.07	0.017
$cLrC_{UP}$	0.53 ± 0.11	0.47 ± 0.03	0.043
$cLrC_{DOWN}$	0.46 ± 0.11	0.52 ± 0.03	0.001
$bSD1$	0.78 ± 0.16	0.71 ± 0.09	0.004
$bSD2$	1.91 ± 0.03	1.93 ± 0.01	0.004
$bSD1/SD2$	0.41 ± 0.09	0.37 ± 0.05	0.004
bC_{UP}	0.36 ± 0.22	0.47 ± 0.23	0.034
bC_{DOWN}	0.63 ± 0.22	0.52 ± 0.23	0.034
$bLrC_{UP}$	0.56 ± 0.01	0.51 ± 0.04	0.0004
$bLrC_{DOWN}$	0.43 ± 0.10	0.48 ± 0.04	0.0004
$r\Delta SD$	$1.01 \text{ e-}06 \pm 2.04 \text{ e-}06$	$3.07 \text{ e-}06 \pm 3.94 \text{ e-}06$	0.018

Tabla 3. Media \pm desviación estándar y p-valor de los parámetros que presentaron diferencias estadísticamente significativas al comparar los grupos pacientes vs control

Al considerar las diferencias por grupos de riesgo los parámetros $SD1$, $SD2$, $SD1 / SD2$ y CCM de la serie temporal RR y $SD1$, $SD2$, $SD1 / SD2$ de la serie temporal SBP presentaron diferencias. La tabla 4 presenta los resultados obtenidos.

Parámetro	HR	LR	p-valor
$cSD1$	0.81 ± 0.22	0.65 ± 0.31	0.015
$cSD2$	1.90 ± 0.04	1.93 ± 0.06	0.015
$cSD1 / SD2$	0.42 ± 0.12	0.34 ± 0.18	0.015
$cCCM$	11.71 ± 11.69	33.80 ± 40.73	0.03
$bSD1$	0.82 ± 0.13	0.71 ± 0.19	0.017
$bSD2$	1.91 ± 0.02	1.93 ± 0.03	0.017
$bSD1 / SD2$	0.43 ± 0.07	0.37 ± 0.01	0.017

Tabla 4. Media \pm desviación estándar y p-valor de los parámetros que presentaron diferencias estadísticamente significativas al comparar los grupos de pacientes HR vs LR

Los parámetros C_{UP} y C_{DOWN} presentaron diferencias estadísticamente significativas cuando se compararon los pacientes entre sus patologías (ICM vs DCM). Luego de la estratificación para el grupo de bajo riesgo los parámetros C_{UP} y C_{DOWN} de la serie temporal T_{Tot} también presentaron diferencias significativas. Ningún parámetro presentó diferencias para el grupo de HR. La tabla 5 presenta los resultados obtenidos.

Parámetro	ICM	DCM	p-valor
rC_{UP}	0.37 ± 0.18	0.47 ± 0.11	0.012
rC_{DOWN}	0.62 ± 0.18	0.52 ± 0.11	0.012
	LR ICM	LR DCM	p-valor
rC_{UP}	0.28 ± 0.13	0.49 ± 0.10	0.001
rC_{DOWN}	0.71 ± 0.13	0.50 ± 0.10	0.001

Tabla 5. Media \pm desviación estándar y p-valor de los parámetros que presentaron diferencias estadísticamente significativas al comparar los grupos de pacientes isquémicos (ICM) y dilatados (DCM), y en el grupo de bajo riesgo (LR)

4. Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos, los diagramas de Poincaré permiten caracterizar la actividad cardiovascular y cardiopulmonar en pacientes con insuficiencia cardíaca. Se obtuvieron índices con significancia estadística que permite diferenciar los pacientes estudiados considerando su patología y su nivel de riesgo.

Los índices obtenidos de la dinámica cardiovascular presentan los mejores resultados en el análisis de riesgo de infarto de miocardio (HR). Por otro lado, los índices obtenidos de la dinámica respiratoria permiten diferenciar los pacientes de acuerdo con su patología (ICM vs. DCM).

Estos resultados sugieren que los pacientes con cardiopatía isquémica presentan una mayor aceleración en la dinámica respiratoria (62%) respecto a los pacientes con cardiopatía dilatada (52%). Al analizar el riesgo, los parámetros sugieren una mayor dispersión de la actividad cardiovascular en los pacientes HR que en los pacientes LR.

Los resultados sugieren nuevos índices para clasificar los grupos de pacientes analizados; estos deberán ser evaluados con un mayor número de pacientes.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por la ayuda de la Secretaria d'Universitats i Recerca, del Departament d'Economia i Coneixement de la Generalitat de Catalunya (Grupo consolidado de recerca GRC 2014 SGR 1569) y por el Ministerio de Economía y Competitividad y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional, ref. DPI2015-68820-R (MINECO/FEDER). Los autores agradecen a los equipos médicos del Hospital de Santa Creu i Sant Pau, por su colaboración en la adquisición de las señales.

Referencias

- [1] Maron B, Rowin E, Casey S, Haas T, Chan R, Udelson J, Garberich R, Lesser J, Appelbaum E, Manning W, Maron M. Risk stratification and outcome of patients with hypertrophic cardiomyopathy ≥ 60 years of age. *Circulation*, 2013;127:585–593.
- [2] Okutucu S, Oto A. Risk stratification in nonischemic dilated cardiomyopathy: Current perspectives. *Cardiology Journal*, 2010;17(3):219–229.
- [3] Agnieszka Kitlas Golińska. "Poincaré Plots in Analysis of Selected Biomedical Signals". *Studies in logic, grammar and rhetoric*, 2013, pp. 117-127.
- [4] A. Drkosova, J. Kozumplik y Z. Nováková. "Heart Rate Variability Expressed by Poincaré Plot in Metabolic Syndrome". *International Congress on Electrocardiology*, 2014, pp. 221 - 224.
- [5] Arcentales A, Voss A, Caminal P, Bayés-Genís A, Domingo MT, Giraldo BF. Characterization of Blood Pressure Signal considering Low and High Risk Stratification in Cardiomyopathy patients. *Computing in Cardiology*, 2013; 40:795-798, 2013.
- [6] J Piskorski y P Guzik. "Geometry of the Poincaré plot of RR intervals and its asymmetry in healthy adults". *Physiological Measurement*, 2007, pp. 287-300.
- [7] Chandan K Karmakar, Ahsan H Khandoker, Andreas Voss y Marimuthu Palaniswami. "Sensitivity of temporal heart rate variability in Poincaré plot to changes in parasympathetic nervous system activity". *BioMedical Engineering OnLine*, 2011, pp. 10-17.
- [8] Hoshi, R. A., Pastre, C. M., Vanderlei, L. C. M. y Godoy, M. F. "Poincaré plots indexes of heart rate variability: relationship with other nonlinear variables". *Autonomic Neuroscience*, 2013, pp. 271-274.
- [9] Chandan K Karmakar, Ahsan H Khandoker, Jayavardhana Gubbi y Marimuthu Palaniswami. "Complex correlation measure: a novel descriptor for Poincaré plot". *BioMedical Engineering OnLine*, 2009, pp. 8 - 17.
- [10] Tulppo MP, Makikallio TH, Takala TES y Seppanen T. "Quantitative beat-to-beat analysis of heart rate dynamics during exercise". *Am J Physiol*, 1996, pp. 244 – 252.
- [11] Matthias Hörtenhuber, Martin Bachler, Siegfried Wassertheurer y Christopher Mayer. "Comparison of Two Filtering Methods for Heart Rate Variability Analysis". *Simulation Notes Europe*, 2014, pp. 137-142.

Caracterización de la actividad neuronal en pacientes con la enfermedad de Alzheimer tras una sesión de estimulación multisensorial

C. Gómez Peña¹, J. Poza Crespo¹, J. Gómez Pilar¹, L. Martín González², P. Núñez Novo¹, M. Rodríguez Poyo², M. Figueruelo Martínez², S. J. Ruiz Gómez¹, R. Hornero Sánchez¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones e Ingeniería Telemática, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, carlos.gomez@tel.uva.es

² Asociación de Familiares y Amigos de Enfermos de Alzheimer y Otras Demencias de Zamora, Zamora, España

Resumen

Una sala de estimulación multi-sensorial (MS) o sala Snoezelen® es un espacio que permite crear ambientes con estímulos controlados, con el objetivo de estimular los sentidos y/o aliviar los síntomas de diferentes patologías. Aunque existen numerosos estudios que sugieren que esta técnica es una intervención no farmacológica eficaz, sólo unos pocos han mostrado de forma cuantitativa los cambios cerebrales que se producen como consecuencia de esta terapia. El objetivo de este trabajo es estudiar los cambios producidos en la actividad cerebral de 15 enfermos de Alzheimer como consecuencia de su participación en una sesión de estimulación MS. A partir de los registros de electroencefalograma (EEG), se calcularon dos medidas de conectividad: la coherencia cuadrática media y la parte imaginaria de la coherencia. Nuestros resultados muestran cambios estadísticamente significativos en los patrones de conectividad tras la terapia. Estos cambios podrían estar asociados a los beneficios que esta terapia provoca en los usuarios participantes.

1. Introducción

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un tipo de demencia caracterizada por la pérdida de neuronas y sinapsis. A nivel histopatológico, el cerebro del paciente con EA muestra dos tipos de agregados proteicos: los ovillos neurofibrilares y el péptido β -amiloide. La EA es una enfermedad neurodegenerativa progresiva con alteraciones cognitivas, conductuales y funcionales [1]. Se trata de la demencia más común en el mundo occidental, ya que representa entre el 50 y el 60% de todas las diagnosticadas [2]. Su prevalencia aumenta con la edad: está en torno al 1% en sujetos de 60 años, pero muestra un crecimiento casi exponencial, llegando a afectar al 30% de los sujetos mayores de 85 años [3]. Debido al aumento de la esperanza de vida en los países occidentales, la EA se está convirtiendo en un gran problema económico y social. La duración media de la EA, desde su desencadenamiento hasta la muerte del paciente, es de unos 8 años [4]. Durante este tiempo, el enfermo sufre una degradación gradual de sus funciones. Por ello, es necesario buscar nuevos tratamientos que ayuden a frenar el avance de la enfermedad.

Hasta hace poco más de una década, la intervención terapéutica en la EA se ha basado en tratamientos farmacológicos mediante inhibidores de la colinesterasa: donepezilo, rivastigmina y galantamina, principalmente.

Estos medicamentos ralentizan la progresión de la enfermedad, aliviando los síntomas [5]. No obstante, su efectividad es limitada, por lo que se necesita complementar dicha intervención con la aplicación de otras estrategias terapéuticas [6]. En los últimos años ha aumentado de manera notable la atención puesta en los tratamientos no farmacológicos, como la estimulación cognitiva, el ejercicio físico, la musicoterapia, el entrenamiento de las actividades de la vida diaria o intervenciones conductuales [6]. Estas terapias ya han demostrado su validez para contribuir al mantenimiento de las capacidades cognitivas y funcionales de las personas afectadas por una demencia [7,8]. El objetivo de estos tratamientos es favorecer la plasticidad neuronal, que permite el establecimiento de nuevas conexiones neuronales ante una demanda externa.

La terapia multisensorial (MS) es un tipo de intervención no farmacológica que, normalmente, se realiza en un lugar específicamente diseñado para estimular los sentidos primarios de los individuos. Un caso particular son las salas de estimulación MS Snoezelen®, que contienen equipamiento sensorial táctil, olfativo, auditivo, vestibular y propioceptivo, como bolas de cristal, cables de fibra óptica, música relajante, columnas de burbujas y otros estímulos sensoriales [9]. Estas salas promueven una sensación de disfrute y un alivio de la tensión, con la consiguiente mejora en el comportamiento general [10]. Existen numerosos estudios que muestran los efectos de esta terapia no farmacológica en pacientes con demencia [11]–[16]. Estas investigaciones previas sugieren que este tipo de terapias produce efectos positivos, si bien la mayoría están basadas únicamente en observaciones subjetivas o datos cualitativos.

En este trabajo se van a estudiar los cambios que se producen en el electroencefalograma (EEG) de 15 pacientes con EA, tras participar en una sesión de estimulación MS en una sala Snoezelen®. Para ello, se registraron 5 minutos de actividad espontánea antes y después de una sesión de estimulación MS. A partir de los registros de EEG, se calcularon dos medidas de conectividad: la coherencia cuadrática media (*MSC*, *Mean Squared Coherence*) y la parte imaginaria de la coherencia (*iCoh*). Estos parámetros servirán para evaluar los cambios inducidos por la terapia en los patrones de conectividad neuronal.

2. Materiales

2.1. Sujetos

Se ha analizado la actividad EEG de 15 enfermos de Alzheimer (2 hombres y 13 mujeres; edad = 81.40 ± 7.87 años; media \pm desviación estándar). Para evaluar la severidad de la enfermedad, se utilizaron el test cognitivo MMSE (*Mini-mental State Examination*) y la escala GDS (*Global Deterioration Scale*). Los valores medios obtenidos en estas pruebas fueron de 14.64 ± 6.79 puntos para MMSE y de 5.20 ± 0.94 para GDS. Los pacientes procedían de la Asociación de Familiares y Amigos de Enfermos de Alzheimer y Otras Demencias de Zamora (AFAZA) y fueron diagnosticados siguiendo el criterio del *National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke - Alzheimer's and Related Disorders Association* (NINCDS-ADRDA). Todos los cuidadores de los enfermos dieron su consentimiento para participar en el presente estudio.

2.2. Protocolo de estimulación

El protocolo experimental se basó en someter a cada sujeto a una sesión de estimulación MS en una sala Snoezelen®. La sesión tuvo una duración de aproximadamente 15 minutos y estaba dividida en 4 partes. La primera parte se centra en el sentido del tacto, mediante el uso de tres baldes con agua a diferente temperatura y objetos de diferentes formas. En la segunda parte, se realiza un circuito de texturas plantares, que el usuario debe ser capaz de reconocer con los pies. La tercera parte pretende estimular los sentidos de la vista y el oído, mediante la utilización de proyecciones y música relajante. Por último, en la cuarta parte, los usuarios deben tratar de describir las características gustativas de diferentes frutas.

2.3. Registros EEG

Las señales EEG fueron registradas en 19 derivaciones del sistema internacional 10-20 (Fp1, Fp2, Fz, F3, F4, F7, F8, Cz, C3, C4, T3, T4, T5, T6, Pz, P3, P4, O1 y O2) con una referencia promedio, mediante un electroencefalógrafo Neurofax JE-921A (Nihon Kohden). Se registraron 5 minutos de actividad EEG espontánea antes y después de la sesión de estimulación MS, con los sujetos despiertos y con los ojos cerrados. Durante el registro se monitorizó su estado para prevenir que se quedaran dormidos. El proceso de adquisición se realizó a una frecuencia de muestreo de 500 Hz, con un filtro paso-banda, entre 0.008 y 120 Hz, así como un filtro de ranura a 50 Hz.

Cada señal EEG se dividió en segmentos de 5 s, seleccionándose mediante inspección visual aquellos libres de artefactos. Finalmente, cada señal EEG se procesó con un filtro FIR (*Finite Impulse Response*), con ventana de Hamming, entre 1 y 40 Hz.

3. Métodos

3.1. Medidas de conectividad: *MSC* e *iCoh*

La coherencia es una medida que permite evaluar la interacción funcional entre electrodos [17]. Se define

como el espectro cruzado de las señales X e Y dividido por la raíz cuadrada del producto del espectro de potencia de X e Y :

$$Coh_{XY}(t, f) = \frac{S_{XY}(t, f)}{\sqrt{S_{XX}(t, f) \cdot S_{YY}(t, f)}} \quad (1)$$

donde S_{XY} es el espectro cruzado de X e Y , y S_{XX} y S_{YY} son el espectro de potencia de X e Y respectivamente.

La coherencia cuadrática media (*MSC*, *Mean Squared Coherence*) de dos señales corresponde al módulo al cuadrado de la coherencia [17]:

$$MSC_{XY}(t, f) = \frac{|S_{XY}(t, f)|^2}{S_{XX}(t, f) \cdot S_{YY}(t, f)} \quad (2)$$

Para calcular la parte imaginaria de la coherencia (*iCoh*), se proyecta la coherencia sobre el eje imaginario [18]:

$$iCoh_{XY}(t, f) = \text{Im} \left\{ \frac{S_{XY}(t, f)}{\sqrt{S_{XX}(t, f) \cdot S_{YY}(t, f)}} \right\} \quad (3)$$

La principal ventaja de *iCoh* es que es una medida insensible a falsas interacciones debidas a la conducción de volumen, que puede provocar que la actividad cerebral de una sola fuente se observe en varios canales. Esto se debe a que *iCoh* descarta las interacciones con una diferencia de fase de 0° o 180° [18].

3.2. Análisis estadístico

Inicialmente, se realizó un análisis descriptivo para analizar la distribución de los parámetros. Puesto que no cumplían las hipótesis de los tests paramétricos, se utilizó el test de los rangos con signo de Wilcoxon ($\alpha = 0.05$) para comparar los patrones de conectividad antes y después de la terapia MS.

4. Resultados

Para estudiar las variaciones en la actividad cerebral como consecuencia de la terapia, se calcularon la *MSC* y la *iCoh*. Los resultados obtenidos con ambos parámetros, que son dependientes de la frecuencia, se promediaron para cada una de las bandas de frecuencia clásicas: δ (1-4 Hz), θ (4-8 Hz), α (8-13 Hz), β (13-30 Hz) y γ (30-40 Hz).

La Figura 1 muestra la diferencia entre los valores de conectividad promedio antes y después de la terapia (Post – Pre) únicamente para aquellas conexiones que mostraron diferencias estadísticamente significativas. Esta figura también muestra los p -valores correspondientes, para cada una de las bandas de frecuencia estudiadas. Es importante mencionar que no se ha utilizado ningún tipo de corrección para contrarrestar el problema de las comparaciones múltiples. La figura refleja que la terapia MS provoca un aumento de los valores de *MSC* en las bandas δ , β y γ . Por el contrario, existe una disminución significativa de *MSC* en la banda α . Por último, la banda θ parece una banda de transición, pues aparecen tanto aumentos como decrementos de conectividad.

En cuanto a los resultados obtenidos con la *iCoh*, destaca la banda δ , con una gran cantidad de conexiones en las que las diferencias entre la actividad EEG Pre-terapia y la actividad Post-terapia es significativa. Es destacable que dentro de esta banda se observan pares de electrodos donde los valores de *iCoh* son mayores antes de la participación en la terapia y otros en los que ocurre lo contrario. Un comportamiento similar, aunque con un menor número de conexiones significativas, se da en las bandas altas de frecuencia (β y γ). Por último, en las bandas θ y α , apenas hay diferencias significativas entre la actividad Pre y Post.

5. Discusión y conclusiones

En este estudio se han analizado los registros EEG de 15 pacientes con EA que han participado en una sesión de estimulación MS. La aplicación de esta estrategia terapéutica a pacientes con demencia se ha popularizado durante los últimos años, aprovechando las capacidades sensoriomotoras residuales de estos pacientes [15].

Existen varios estudios previos que muestran los efectos beneficiosos que la terapia MS provoca en los pacientes con EA y/o con otros tipos de demencia. Por ejemplo, van Wert *et ál.* [13] indicaron que los usuarios que recibieron

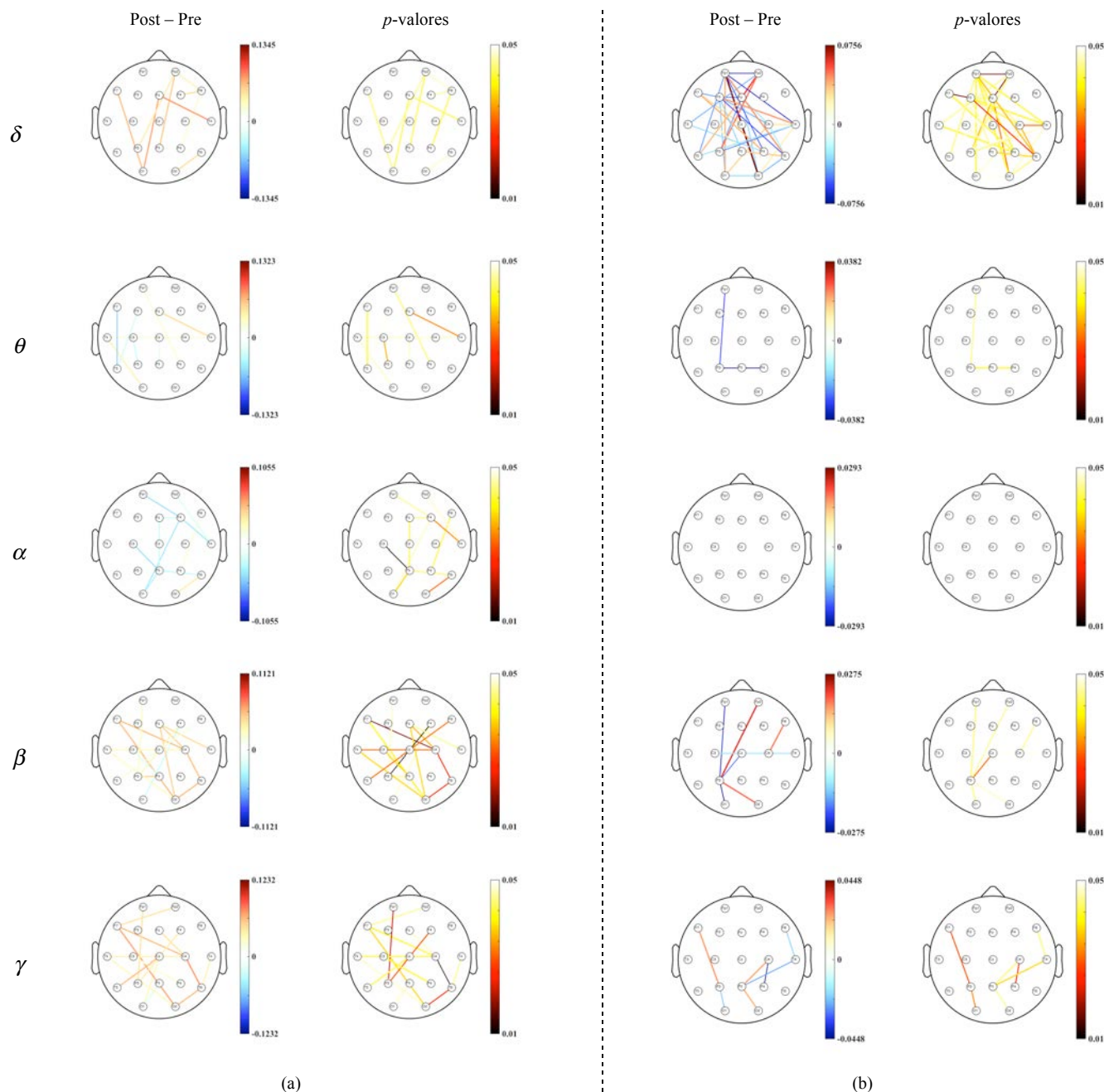


Figura 1. Patrones de conectividad obtenidos con cada parámetro, así como sus *p*-valores correspondientes. a) Coherencia cuadrática media (MSC). b) Parte imaginaria de la coherencia (*iCoh*). Para cada parámetro, la columna de la izquierda muestra la diferencia entre los valores de conectividad promedio antes y después de la terapia multisensorial Snoezelen®, mientras que la columna de la derecha muestra los resultados del análisis estadístico. Es importante destacar que únicamente se han mostrado las conexiones en las que se hallaron diferencias estadísticamente significativas (*p*-valores < 0.05; test de los rangos con signo de Wilcoxon).

terapia en una sala Snoezelen® mostraron una mejora significativa en los niveles de apatía, decoro, comportamiento rebelde y agresivo, y depresión. La observación de los pacientes durante su interacción con los cuidadores también reveló cambios positivos de humor, sensación de bienestar y comunicación verbal [13]. Un estudio más reciente [16] parece corroborar estos efectos, mostrando que tras la terapia disminuyen los niveles de depresión y ansiedad, a la vez que aumentan las puntuaciones en el test MMSE. Por último, Baker *et al.* [12] revelaron que pacientes con demencia también muestran una mayor atención hacia el ambiente, a la vez que una mejor relación con los demás. La principal limitación de estos estudios es que están basados en observaciones subjetivas o datos cualitativos. En el presente trabajo hemos ido un paso más allá, cuantificando los cambios en la actividad cerebral de los pacientes mediante dos medidas de conectividad: *MSC* e *iCoh*.

Es importante mencionar varias limitaciones de este trabajo de investigación. En primer lugar, el número de sujetos analizado es insuficiente para obtener conclusiones significativas, por lo que sería interesante incrementar la base de datos para aumentar la potencia estadística. En segundo lugar, en el presente trabajo se han analizado los cambios en la actividad EEG inmediatamente posteriores a la terapia propuesta. Los resultados parecen indicar un beneficio a corto plazo asociado a la terapia. Sin embargo, sería interesante analizar si los efectos observados se mantienen en el tiempo, aunque algunos estudios previos sugieren que esto no ocurre [12].

Podemos concluir que el análisis de la actividad EEG con medidas de conectividad muestra que la terapia MS provoca cambios significativos en la actividad cerebral de los pacientes con EA, que podrían reflejar los beneficios asociados a esta intervención terapéutica. Este estudio constituye un paso inicial para demostrar la posible utilidad de las salas Snoezelen® para el tratamiento de la EA y otras demencias.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los proyectos TEC2014-53196-R del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) y FEDER, y el proyecto VA037U16 de la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León. J. Gómez Pilar cuenta con una ayuda FPI-UVA de la Universidad de Valladolid. P. Núñez Novo disfruta de una ayuda "Promoción de empleo joven e implantación de la Garantía Juvenil en I+D+i" del MINECO y de la Universidad de Valladolid.

Referencias

- [1] Cummings JL. Alzheimer's disease. *New Engl. J. Med.*, vol. 351, 2004, pp. 56–67.
- [2] Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. Alzheimer's disease. *The Lancet*, vol. 368, 2006, pp. 387–403.
- [3] Ferri CP, Prince M, Brayne C, Brodaty H, Fratiglioni L, Ganguli M, *et al.* Global prevalence of dementia: a Delphi consensus study. *The Lancet*, vol. 366, 2005, pp. 2112–7.
- [4] Barclay LL, Zemcow A, Sansone JP. Survival in Alzheimer's disease and vascular dementias. *Neurology*, vol. 35, 1985, pp. 834–40.
- [5] Borson S, Raskind MA. Clinical features and pharmacologic treatment of behavioral symptoms of Alzheimer's disease. *Neurology*, vol. 48, 1997, pp. S17–24.
- [6] Olazarán J, Reisberg B, Clare L, Cruz I, Peña-Casanova J, Del Ser T, *et al.* Nonpharmacological therapies in Alzheimer's disease: a systematic review of efficacy. *Dement. Geriatr. Cogn. Disord.*, vol. 30, 2010, pp. 161–78.
- [7] De Vreese LP, Neri M, Fioravanti M, Belloi L, Zanetti O. Memory rehabilitation in Alzheimer's disease: a review of progress. *Int. J. Geriatr. Psychiatry*, vol. 16, 2001, pp. 794–809.
- [8] Hulme C, Wright J, Crocker T, Oluboyede Y, House A. Non-pharmacological approaches for dementia that informal carers might try or access: a systematic review. *Int. J. Geriatr. Psychiatry*, vol. 25, 2010, pp. 756–63.
- [9] Cuvo AJ, May ME, Post TM. Effects of living room, Snoezelen room, and outdoor activities on stereotypic behavior and engagement by adults with profound mental retardation. *Res. Dev. Disabil.*, vol. 22, 2001, pp. 183–204.
- [10] Singh NN, Lancioni GE, Winton AS, Molina EJ, Sage M, Brown S, Groeneweg J. Effects of Snoezelen room, Activities of Daily Living skills training, and Vocational skills training on aggression and self-injury by adults with mental retardation and mental illness. *Res. Dev. Disabil.*, vol. 25, 2004, pp. 285–93.
- [11] Chung JC, Lai CK, Chung PM, French HP. Snoezelen for dementia. *Cochrane Database Syst Rev*, Wiley Online Library, 2002.
- [12] Baker R, Bell S, Baker E, Holloway J, Pearce R., Dowling Z, *et al.* A randomized controlled trial of the effects of multi-sensory stimulation (MSS) for people with dementia. *Br. J. Clin. Psychol.*, vol. 40, 2001, pp. 81–96.
- [13] Van Weert J, Van Dulmen AM, Spreeuwenberg PM, Ribbe MW, Bensing JM. Behavioral and Mood Effects of Snoezelen Integrated into 24 - Hour Dementia Care. *J. Am. Geriatr. Soc.*, vol. 53, 2005, pp 24–33.
- [14] Berg A, Sadowski K, Beyrodt M, Hanns S, Zimmermann M, Langer G, Becker C, Lautenschläger C, Behrens J. Snoezelen, structured reminiscence therapy and 10-minutes activation in long term care residents with dementia (WISDE): study protocol of a cluster randomized controlled trial. *BMC Geriatr.*, vol. 10, 2010, pp. 1–7.
- [15] López-Almela A, Gómez-Conesa A. Intervención en demencias mediante estimulación multisensorial (snoezelen). *Fisioterapia*, vol. 33, 2011, pp. 79–88.
- [16] Ozdemir L, Akdemir N. Effects of multisensory stimulation on cognition, depression and anxiety levels of mildly-affected Alzheimer's patients. *J. Neurol. Sci.*, vol. 283, 2009, pp. 211–3.
- [17] Nunez PL, Srinivasan R, Westdorp AF, Wijesinghe RS, Tucker DM, Silberstein RB, *et al.* EEG coherency: I: statistics, reference electrode, volume conduction, Laplacians, cortical imaging, and interpretation at multiple scales. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, vol. 103, 1997, pp. 499–515.
- [18] Nolte G, Bai O, Wheaton L, Mari Z, Vorbach S, Hallett M. Identifying true brain interaction from EEG data using the imaginary part of coherency. *Clin. Neurophysiol.*, vol. 115, 2004, pp. 2292–307.

Análisis de la Actividad MEG en Pacientes con Deterioro Cognitivo Leve Mediante la Probabilidad de Sincronización y Parámetros Derivados de la Teoría de Redes Complejas

S.J. Ruiz Gómez¹, C. Gómez Peña¹, J. Poza Crespo¹, A. Fernández Lucas²,
P. Núñez Novo¹, R. Hornero Sánchez¹

¹Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, saul.ruiz@gib.tel.uva.es

²Departamento de Psiquiatría, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.

Resumen

El objetivo de este trabajo es analizar la actividad magnetoencefalográfica (MEG) en 18 pacientes con deterioro cognitivo leve (DCL) y 26 sujetos de control utilizando la probabilidad de sincronización (SL, Synchronization Likelihood) y parámetros de red derivados de la teoría de grafos. Nuestros resultados muestran diferencias significativas entre los grupos para el grado del nodo en la banda alfa y para la longitud de camino más corto en la banda zeta. En cuanto a la precisión diagnóstica, se han obtenido valores del 70.45% para el grado del nodo normalizado en las bandas delta, zeta y beta, y del 72.73% para la longitud de camino más corto normalizada en la banda zeta. Nuestros resultados han mostrado la capacidad de la SL y los parámetros de red para detectar las alteraciones que el DCL provoca en la actividad cerebral de los pacientes.

1. Introducción

El deterioro cognitivo leve (DCL) es una patología que se corresponde con un estado transicional entre los cambios cognitivos asociados al envejecimiento normal y un estadio temprano de la demencia. Esta condición provoca un cierto grado de déficit cognitivo cuya severidad resulta insuficiente para cumplir los criterios de demencia, ya que las personas que la sufren no presentan un compromiso esencial en las actividades de la vida diaria [1]. La prevalencia del DCL está entre un 14 y un 18% para sujetos mayores de 65 años. El riesgo de desarrollar demencia en los pacientes con DCL es mucho más elevado que en individuos sin esta patología. Aunque presenta una enorme variabilidad, en torno al 10-15% de sujetos acaban padeciendo la enfermedad de Alzheimer (EA) [2].

La magnetoencefalografía (MEG) es una técnica no invasiva que registra los campos electromagnéticos generados por la actividad neuronal del cerebro. La MEG presenta ciertas ventajas sobre la EEG: los registros no dependen de ningún punto de referencia y las propiedades resistivas del cráneo y del cuero cabelludo se ven menos afectadas por los campos magnéticos que por los eléctricos. Sin embargo, los campos magnéticos generados por el cerebro son muy débiles, por lo que es necesario el uso de materiales superconductores y de habitaciones aisladas magnéticamente, lo que hace que la instalación y el mantenimiento de un equipo MEG sean muy costosos [3].

Tradicionalmente, los registros cerebrales de pacientes con DCL y EA se han analizado con técnicas espectrales. Centrándonos en las señales MEG, los registros pertenecientes a pacientes con estas patologías muestran una lentificación del espectro, lo que se traduce en un aumento de potencia en las bandas bajas de frecuencia y un descenso en las bandas altas [4]. Además, la utilización de varias entropías espectrales también ha permitido discriminar los registros MEG de pacientes y controles [5]. Sin embargo, estos estudios mencionados anteriormente no tienen en cuenta la posible interacción entre diferentes canales MEG, considerando cada uno de ellos como una señal independiente. Por ello, en este trabajo se pretenden mostrar las alteraciones que provoca el DCL en los valores de sincronización entre los diferentes canales MEG.

El objetivo fundamental de este trabajo es analizar la actividad MEG en un grupo de pacientes con DCL y un grupo de sujetos de control mediante la probabilidad de sincronización (SL, *Synchronization Likelihood*) y cuatro parámetros de red derivados de la teoría de grafos: grado del nodo, longitud de camino más corto, eficiencia global y coeficiente de agrupamiento. Mediante esta metodología, se pretenden extraer patrones de normalidad y patrones patológicos asociados al DCL.

2. Materiales y métodos

2.1. Sujetos

Se ha analizado la actividad base magnetoencefalográfica de 18 pacientes con DCL (8 hombres y 10 mujeres; edad = 74.89 ± 5.57 años; media \pm desviación estándar) y 26 sujetos de control de edad avanzada (9 hombres y 17 mujeres; edad = 71.77 ± 6.38 años). La diferencia en la edad media de ambos grupos no resultó ser estadísticamente significativa. Para evaluar el déficit cognitivo de los sujetos se utilizó el *Mini-mental State Examination* (MMSE) de Folstein mientras que para evaluar el deterioro cognitivo se utilizó la escala GDA/FAST (*Global Deterioration Scale/Functional Assessment Staging*) de Reisberg. Los valores medios obtenidos para el MMSE fueron de 25.67 ± 1.81 puntos para los pacientes y de 28.88 ± 1.18 para los sujetos de control, mientras que para el FAST fueron 3.00 ± 0.00 y 1.73 ± 0.45 , para los sujetos de DCL y control respectivamente. Ninguno de los participantes en el

estudio tomaba medicamentos que pudieran influir en el registro del MEG.

2.2. Registro MEG

El registro de las señales MEG se realizó con un equipo de 148 canales (MAGNES 2500 WH, 4D Neuroimaging) situado en una habitación aislada magnéticamente en el Centro de Magnetoencefalografía Dr. Pérez-Modrego de la Universidad Complutense de Madrid. Los sujetos se encontraban tumbados en una camilla, despiertos y con los ojos cerrados. Para cada uno de los sujetos, se registró una señal de 5 minutos, con una frecuencia de muestreo de 678.17 Hz. Estas señales fueron submuestreadas por un factor de 4 (169.549 Hz) para reducir su tamaño. Los registros fueron filtrados digitalmente entre 1 y 65 Hz y segmentados en épocas de 5 segundos (848 muestras) para su posterior análisis. Finalmente, las señales fueron filtradas digitalmente utilizando 5 filtros FIR de ventana de Hamming, uno por cada banda de frecuencia de estudio (delta: 1 – 4 Hz; zeta: 4 – 8 Hz; alfa: 8 – 13 Hz; beta: 13 – 30 Hz; y gamma: 30 – 65 Hz).

2.3. Probabilidad de sincronización

La SL es una medida del grado de sincronización o conectividad entre dos o más series temporales, por ejemplo dos canales MEG [6]. El concepto de “sincronización generalizada” se refiere a una situación donde los estados de un sistema dinámico Y son función de los de otro sistema X , es decir, $Y = F(X)$. La existencia de sincronización generalizada entre X e Y tiene una importante consecuencia: estados similares tienden a tener lugar en tiempos similares en ambos sistemas. En términos de las señales que generan los sistemas, esto significa que, si los patrones temporales en los instantes t_i y t_j son similares, probablemente los patrones $y(t)$ en esos mismos instantes serán similares [7]. Podría decirse que la SL es el índice más popular para estimar la sincronización generalizada en conjuntos de datos neurofisiológicos. Este índice se basa en la detección de patrones que ocurren simultáneamente, lo que puede ser complejo y ampliamente diferente entre señales.

Para llevar a cabo el cálculo de la SL se ha utilizado el *toolbox* de Matlab® HERMES (Herramientas de Medida de la Sincronización, *Tools for the Assessment of Synchronization*), desarrollado por el CTB (*Center for Biomedical Technology*) de la Universidad Politécnica de Madrid [7].

2.4. Parámetros de red

El cerebro humano se puede ver como un gran número de regiones cerebrales que desempeñan una función distinta pero que comparten constantemente información, constituyendo así una gran red compleja [8]. La teoría de grafos trata con redes representadas como un conjunto de nodos (vértices) y las conexiones entre los mismos (enlaces).

A partir de las matrices de SL obtenidas, se han calculado cuatro parámetros de red: grado del nodo (*Node Degree*), longitud de camino más corto (*Path Length*), eficiencia

global (*Global Efficiency*) y coeficiente de agrupamiento (*Clustering Coefficient*), que se describen a continuación. Para el cálculo de estos parámetros de red se ha utilizado el *toolbox* para Matlab® BCT (*Brain Connectivity Toolbox*), desarrollado principalmente por Mikail Rubinov y Olaf Sporns [9].

2.4.1. Grado del nodo

Las diferentes distribuciones de los grados de los nodos dentro de una red pueden dar lugar a diferentes clases de redes. El grado de un nodo i se corresponde con el peso total de sus conexiones (cada conexión w se corresponde con el valor de SL) con el resto de nodos j , siendo $N = 148$ (número total de nodos de la red):

$$k_i = \sum_{j \in N} w_{ij} \quad (1)$$

2.4.2. Longitud de camino más corto

Se puede definir la longitud de un enlace como el inverso del peso de la conexión (w_{ij}), de tal forma que $L_{ij} = 1/w_{ij}$ si $w_{ij} \neq 0$, y $L_{ij} = +\infty$ si $w_{ij} = 0$. Para calcular la longitud de camino promedio para toda la red (L_w) se ha empleado la media armónica, ya que nos permite considerar longitudes de camino infinitas entre nodos desconectados. De esta forma, la longitud de camino promedio se calcula como:

$$L_w = \frac{1}{\left(\frac{1}{N(N-1)}\right) \sum_{i=1}^N \sum_{j \neq i}^N \left(\frac{1}{L_{ij}}\right)} \quad (2)$$

2.4.3. Eficiencia global

La eficiencia global cuantifica la capacidad de la red en el envío de información entre los nodos, suponiendo que la eficiencia para el envío de información entre dos nodos i y j es inversamente proporcional a su distancia [10].

Según esto, el cálculo de la eficiencia global utiliza una suma de la inversa de la distancia L , de modo que las rutas no existentes, que conducirían a una distancia infinita, contribuyen un valor cero a la suma [11].

$$E_g = \frac{1}{N(N-1)} \sum_{i \neq j} \frac{1}{L_{i,j}} \quad (3)$$

2.4.4. Coeficiente de agrupamiento

El coeficiente de agrupamiento de un nodo de grado k representa la fracción de conexiones existentes que tiene el nodo con sus k vecinos más próximos. Localmente, representa la fracción de triángulos que se forman alrededor del nodo en concreto. También se puede definir el coeficiente de agrupamiento C_i del nodo i como la probabilidad de que otros nodos j , que están conectados a él, estén conectados a su vez entre sí [9].

$$C_i = \frac{\sum_{k \neq i} \sum_{l \neq i} \sum_{l \neq k} w_{ik} w_{il} w_{kl}}{\sum_{k \neq i} \sum_{l \neq i} w_{ik} w_{il}} \quad (4)$$

2.5. Normalización

Con el objetivo de obtener parámetros que sean independientes del tamaño de la red, se calcularon un conjunto de 50 redes aleatorias subrogadas para cada época no artefactuada de cada paciente, derivadas de las redes originales reordenando de manera aleatoria las conexiones entre los nodos y manteniendo la distribución de los grados de los nodos [12]. Se realizó posteriormente el cálculo de todos los parámetros de red para cada una de estas redes subrogadas siguiendo el mismo procedimiento que para los datos originales. Una vez obtenidos, se calculó el valor de los parámetros de red normalizados (C_n), fruto de dividir el valor obtenido a partir de los datos originales (C_w) entre el valor subrogado (C_{surr}). A modo de ejemplo, el coeficiente de agrupamiento normalizado sería [12]:

$$C_n = \frac{C_w}{C_{surr}} \tag{5}$$

3. Resultados

El resultado final de calcular la SL para todas las combinaciones de canales MEG es una matriz $B \times B$ con $B = 148$ (número de canales), donde cada elemento $B_{i,j}$ contiene el valor de SL para los canales i y j . En el caso de los parámetros de red, tanto el grado del nodo como el coeficiente de agrupamiento son medidas nodales por lo que se ha obtenido un vector de B componentes, uno por cada canal MEG. Posteriormente, para obtener un único valor de estos parámetros para toda la red se ha realizado

la media aritmética de los valores de todos los canales, obteniendo el grado del nodo promedio normalizado (k_n) y el coeficiente de agrupamiento normalizado promedio (C_n).

La Figura 1 muestra los *boxplots* del grado del nodo normalizado en los grupos de pacientes con DCL y sujetos de control para todas bandas de frecuencia bajo estudio. El test U de Mann-Whitney reveló diferencias significativas en la banda alfa (p -valor=0.0187).

Del mismo modo, en las Figuras 2 a 4 se puede ver la distribución de los valores obtenidos tras normalizar para la longitud de camino más corto, la eficiencia global y el coeficiente de agrupamiento, respectivamente. Únicamente se han obtenido diferencias estadísticamente significativas para la longitud de camino más corto en la banda zeta (p -valor=0.0078).

En nuestro estudio, se han utilizado también curvas características operativas del receptor (ROC, *Receiver Operating Characteristic*), con el objetivo de evaluar la capacidad de los distintos parámetros de red para discriminar entre pacientes con DCL y sujetos de control. A partir de estas curvas se calcularon los valores de precisión, sensibilidad, especificidad y área bajo la curva ROC. Para el caso del grado del nodo normalizado, cabe destacar que para las bandas delta, zeta y beta se obtuvo un valor de precisión de 70.45%. Por otra parte, para la longitud de camino más corto normalizada, en la banda zeta, se obtuvo un valor de precisión del 72.73% y un área bajo la curva ROC de 0.7393, la más alta del estudio.

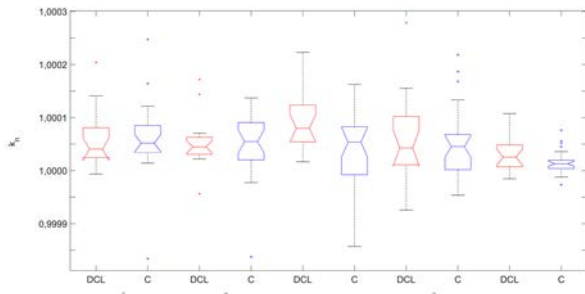


Figura 1. Boxplots del grado del nodo normalizado en las distintas bandas de estudio.

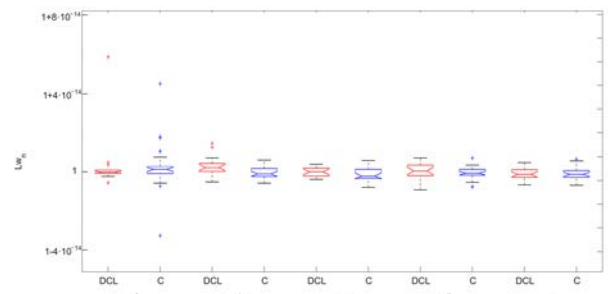


Figura 2. Boxplots de la longitud de camino más corto normalizada en las distintas bandas de estudio.

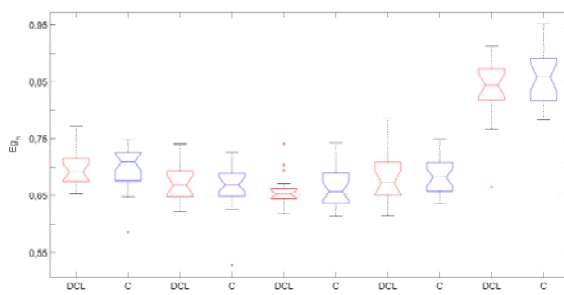


Figura 3. Boxplots de la eficiencia global normalizada en las distintas bandas de estudio.

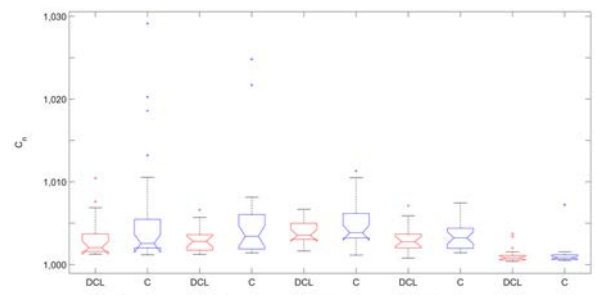


Figura 4. Boxplots del coeficiente de agrupamiento normalizado en las distintas bandas de estudio.

4. Discusión y conclusiones

En este estudio se ha analizado registros MEG de 18 pacientes con DCL y 26 sujetos de control utilizando la SL y parámetros de red derivados de la teoría de grafos. Nuestros resultados muestran que los valores obtenidos para la SL son sensiblemente mayores para los sujetos de control, lo que indica una disminución de la conectividad entre los canales MEG en los pacientes con DCL. Existe una gran heterogeneidad de resultados en estudios previos de conectividad. Así, los trabajos de Pijenburg *et al.* [13] y Stam *et al.* [12] revelaron valores de conectividad mayores en los pacientes con DCL que en los sujetos de control utilizando la SL. Por el contrario, los estudios de Al-Jumeily *et al.* [14] y Dauwels *et al.* [15] muestran una disminución de los valores de conectividad para el grupo de pacientes con DCL utilizando la coherencia como medida de conectividad.

En cuanto a los parámetros de red, cabe destacar que se han obtenido valores menores para los sujetos con DCL en comparación con los controles para todas bandas, a excepción del grado del nodo en las bandas alfa y gamma. Estos resultados están en consonancia con el estudio de Seo *et al.* [16], en el cual se obtuvieron valores menores del coeficiente de agrupamiento y de la longitud de camino en los pacientes con DCL, presentando únicamente los primeros diferencias significativas. En nuestro estudio, se han obtenido diferencias significativas para el grado del nodo en la banda alfa y para la longitud de camino más corto en la banda zeta.

Existen varias limitaciones en el presente estudio. La población analizada es pequeña y, por tanto, será necesario aumentarla para así poder generalizar los resultados del estudio. Además, el promediado realizado implica pérdida de resolución espacial, por lo que sería interesante dividir los sensores en las cinco regiones típicas: anterior, central, lateral izquierda, lateral derecha y posterior. Por último, para obtener una estimación imparcial de la tasa real de la clasificación, sería más conveniente utilizar las curvas ROC con validación cruzada dejando uno fuera para calcular los valores de sensibilidad, especificidad y precisión.

Podemos concluir que nuestro análisis muestra una disminución de los valores de SL y de los parámetros de red derivados de la teoría de grafos en los registros MEG pertenecientes a los pacientes con DCL respecto a los controles. Este estudio constituye un paso inicial para demostrar la posible aplicación del análisis mediante teoría de grafos de señales MEG como ayuda al diagnóstico del DCL.

Agradecimientos

Este estudio ha sido parcialmente financiado por los proyectos TEC2014-53196-R del Ministerio de Economía y Competitividad y FEDER, y VA037U16 de la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León. P. Núñez Novo cuenta con una beca de Promoción de empleo joven e implantación de la Garantía Juvenil en I+D+i del Ministerio de Economía y Competitividad y la Universidad de Valladolid.

Referencias

- [1] Petersen, RC. Mild cognitive impairment as a diagnostic entity. *Journal of Internal Medicine*, vol. 256, 2004, pp. 183–194.
- [2] Petersen, RC, Smith, GE, Waring, SC, Ivnik, RJ, Tangalos, EG & Kokmen E. Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Archives of Neurology*, vol. 56, 1999, pp. 303–308.
- [3] Vrba, J & Robinson, SE. Signal Processing in Magnetoencephalography. *Methods*, vol. 25(2), 2001, pp. 249–271.
- [4] Fernández, A, Hornero, R, Mayo, A, Poza, J, Gil-Gregorio, P & Ortiz T. MEG spectral profile in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. *Clinical Neurophysiology*, vol. 117, 2006, pp. 306–314.
- [5] Poza, J, Hornero, R, Escudero, J, Fernández, A, Sánchez, CI. Regional analysis of spontaneous MEG rhythms in patients with Alzheimer's disease using spectral entropies. *Annals of Biomedical Engineering*, vol 36, 2008.
- [6] Stam, CJ & van Dijk, BW. Synchronization likelihood: an unbiased measure of generalized synchronization in multivariate data sets. *Physica D*, vol. 163, 2002.
- [7] Niso, G, Bruña, R, Pereda, E, Gutiérrez, R, Bajo, R, Maestú, F, & Del-Pozo, F. HERMES: Towards an integrated toolbox to characterize functional and effective brain connectivity. *Neuroinformatics*, vol. 11(4), 2013, pp. 405–434.
- [8] Van Den Heuvel, MP & Pol, HEH. Exploración de la red cerebral: una revisión de la conectividad funcional en la RMf en estado de reposo. *Psiquiatría Biológica*, vol. 18(1), 2011, pp. 28–41.
- [9] Rubinov, M & Sporns, O. Complex network measures of brain connectivity: Uses and interpretations, *NeuroImage*, vol. 52, 2010, pp. 1059–1069.
- [10] Costa, LF, Rodrigues, FA, Travieso, G & Villas Boas PR. Characterization of Complex Networks: A Survey of measurements. *Advances in Physics*, vol. 1, 2008, pp. 167–242.
- [11] Kaiser, M. A tutorial in connectome analysis: Topological and spatial features of brain networks. *NeuroImage*, vol. 57, 2011, pp. 892–907.
- [12] Stam, CJ, de Haan, W, Daffertshofer, A, Jones, BF, Manshanden, I, van Cappellen van Walsum, AM, Montez, T, Verbunt, JPA, de Munck, JC, van Dijk, BW, Berendse, HW & Scheltens, P. Graph theoretical analysis of magnetoencephalographic functional connectivity in Alzheimer's disease. *Brain*, vol. 132(1), 2009, pp. 213–224.
- [13] Pijenburg, YAL, van de Made, Y, van Cappellen van Walsum, AM, Knol, DL, Scheltens, Ph & Stam, CJ. EEG synchronization likelihood in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease during a working memory task. *Clinical Neurophysiology*, vol. 115, nº 6, 2004, pp. 1332–39.
- [14] Al-Jumeily, D, Iram, S, Vialatte, F-b, Fergus, P & Hussain, A. A novel method of early diagnosis of Alzheimer's disease based on EEG signals. *The Scientific World Journal*. 2015.
- [15] Dauwels, J, Vialatte, F, Latchoumane, C, Jeong, J & Cichocki, A. EEG synchrony analysis for early diagnosis of Alzheimer's disease: A study with several synchrony measures and EEG data sets. *2009 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*. 2009, pp. 2224–2227.
- [16] Seo, EH, Lee, DY, Lee, JM, Park, JS, Sohn, BK, Lee, DS, Choe, YM & Woo, JI. Whole-brain Functional Networks in Cognitively Normal, Mild Cognitive Impairment, and Alzheimer's Disease. *Plos ONE*. 2013.

Determination of Hemodynamic Changes on Heart Rate for Assessment of Orthostatic Intolerance in Older People

M. Hortelano Rubio¹, R.B. Reilly², R. Cervigón Abad¹

¹ Escuela Politécnica. UCLM. Camino del Pozuelo sn. 16071. Cuenca. Spain, Marcos.Hortelano@uclm.es

² School of Engineering and School of Medicine. Trinity College Dublin. Republic of Ireland.

Abstract

Introduction.- The aim of our study was to assess the hemodynamic changes that occur in symptomatic Orthostatic Intolerance (OI) patients, at the starting of exercise and recovery stages during six minutes walking distance test.

Materials.- We analysed 65 older subjects, of whom 42 were women. The participants were carried out the Active Stand Protocol. The records were divided into: Phase 1 (pre-exercise), Phase 2 (starting of exercise), Phase 3 (active), Phase 4 (recovery) and Phase 5 (post-exercise).

Methods.- The averages and differences of heart rate (HR) between Phase 1, Phase 3 and Phase 5 were calculated. In the same way, duration before stabilization from passive to active stages (Phase 2) and from active to passive stages (Phase 4) were calculated. The maximum and minimum values achieved in these time series and the difference between these values were also calculated.

Results.- Results showed that the symptomatic OI patients employed more time to reach the active phase than the asymptomatic OI participants. Moreover, the symptomatic OI participants showed higher minimum heart rate values at the starting of exercise and recovery stages. However, the asymptomatic OI group illustrated a higher difference between the maximum and minimum heart rate values in these stages with a significance $p=0.003$ and $p=0.007$, respectively.

Conclusion.- This study provides important information on hemodynamic parameters and can be helpful for description of the hemodynamic changes that occur during OI.

1. Introduction

Hemodynamic parameters, such as heart rate (HR) and arterial blood pressure (BP) display certain variability. These cardiovascular responses could vary between children, adults, and elderly people due to the age, effects of diseases on the heart, as well as, on the circulatory system [1-4].

Orthostatic hypotension (OH) is the most common disorder of blood pressure regulation after essential hypertension, and it is an important clinical entity in older people. OH is an excessive fall in blood pressure when an upright position is assumed. It is related symptoms associated with the occurrence of syncope. It presents as a heterogeneous group of diseases but commonly is manifest itself as symptoms of orthostatic intolerance (OI) [5-8]. Moreover, OH has been found to increase risk of mortality and has been associated with a number of diseases including stroke, myocardial infarction, and coronary artery disease [9]. OI in older people is important as researchers have found that

OI is more strongly associated with a history of falling and impairment of functional status than postural hypotension [10]. Recent studies suggest systolic blood pressure (SBP) changes during active stand relate to OI and the rate of recovery of SBP during first 30 seconds following active stand is an important determinant of OI [11-13].

The aim of our study was the assessment on hemodynamic changes that can occur in symptomatic OI patients, studying the starting of exercise and recovery stages during six minutes walking distance test.

2. Materials

The database included a total of 65 participants, aged over 70 years of age (70.11 ± 5.85), of whom 65% were females. There was no significant differences in age and gender between symptomatic and asymptomatic OI participants, 44.6% ($n=29$) had symptoms of OI and 55.4% ($n=36$) did not (Table 1).

		Women	Men
OI	Participants	23	13
	Age	69.65 ± 5.29	71.77 ± 6.47
Non-OI	Participants	19	10
	Age	70.63 ± 5.34	68.00 ± 7.21

Table 1. Participants characteristics.

The participants were evaluated in the Technology Research for Independent Living Clinic (TRIL) at St James hospital in Dublin [14]. To carry out this study, the approval of the Local Research Ethics Committee (SJH/AMNCH Research Ethics Committee approval reference number 13/06/2007) was necessary. Every participants got a minimum score of 23 in a Mini- mental state examination (MMSE), which is the threshold in insanity detection in the Irish framework [15]. All subjects consented before being included in this study. None of the participants suffered from Parkinson, diabetes mellitus, acute chronic renal failure, deficiency in B12 vitamin or a pacemaker. The measurements were carried out using the Finapres method (Finger Arterial Pressure).

3. Methods

3.1. Procedure

To collect the data, the participants were carried out the Active Stand Protocol, following and orthostatic test; going from supine position to bipedalism with non-invasive beat to beat BP monitor by means of the Finometer PRO device. Before standing up, the participants rested in supine position for at least 10 minutes. Their BP was then monitored for 3 minutes while they were standing. The participants were asked whether they had felt dizzy or faint. The measurements of BP were measured by Finometer PRO device at the start of the study (at least 2 minutes before starting the protocol), by using the return flow calibration system. The six minutes walking distance (6MWD) test was applied, which is considered a protocol as simple effort, easy to do and which has proved to be a good reflection of the activities of a dialy life. This test must be applied to patients with moderate or severe limitation to exercise. It consists of measuring the hemodynamic parameters of the subjects for six minutes whilst the walk along a flat, straight corridor at their own pace [16]. The 6MWD test is divided into clearly five identified and differentiated phases: a first phase of rest with a duration of 3 minutes, Phase 1 (*pre-exercise*). During the Phase 2 our participants begin the walk (*starting of exercise*). The Phase 3, with a duration of 6 minutes, in which participants are doing exercise (*active*). The Phase 4 which started when our participants ended the walk until they have recovered (*recovery*) and the Phase 5 at rest with a duration of 3 minutes (*post-exercise*) (Figure 1).

3.2. Data Analysis

Firstly, the averages of each of the phase 1, phase 3 and phase 5 were calculated, as the differences between these averages (Figure 1).

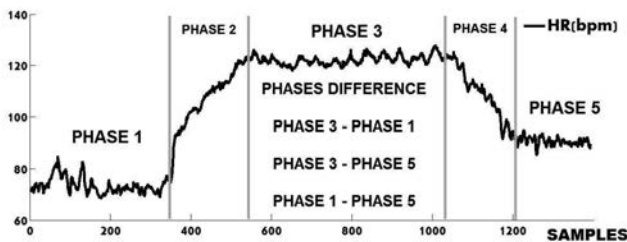


Figure 1. Patient HR during six-minutes walking distance.

The durations in seconds (s) of the stage of starting of exercise (phase 2) and the recovery phase (phase 4) were calculated (Figure 2).

- MAX_{START}: Maximum HR in phase 2.
- MIN_{START}: Minimum HR in phase 2.
- MAX_{RECOVERY}: Maximum HR in phase 4.
- MIN_{RECOVERY}: Minimum HR in phase 4.
- Diff_{START}: Difference in HR (bpm) between MAX_{START} and MIN_{START}.
- Diff_{RECOVERY}: HR Difference (bpm) between MAX_{RECOVERY} and MIN_{RECOVERY}.

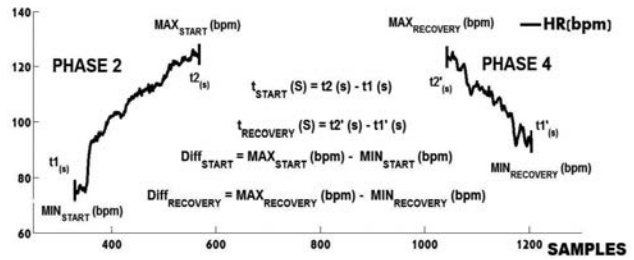


Figure 2. Phase 2 and phase 4 of a patient HR during six-minutes walking distance.

3.3. Statistical analysis

An analysis of variance (ANOVA) was employed to test differences between phases and between groups for each hemodynamic parameter. Comparisons of continuous variables between the two groups were performed by Student's unpaired t-test or Mann-Whitney U test, where appropriate. Analysis of variance with repeated measurements ANOVA and with the Student-Newman-Keuls test were used to study the effect of one or more factors when at least one of them is a within-subjects factor or related measurements. The results were regarded as statistically for $p < 0.05$.

4. Results

4.1. Starting of exercise and recovery stages analysis

The analysis of the time of adaptation to exercise and the recovery time showed different behaviour between symptomatic OI and asymptomatic OI participants. In both groups, the adaptation to exercise time was higher than the recovery time, but these differences were only statistically significant in the symptomatic OI group ($p < 0.001$) (Table 2).

Pathology	t _{START} (s)	t _{RECOVERY} (s)	Sig. (p)
OI	87.39±28.10	70.92±18.22	<0.001
Non-OI	72.11±22.74	69.86±18.00	>0.05

Table 2. Start and recovery time in seconds (s).

In addition, symptomatic OI participants employed a longer time to adaptate to exercise if we compared with asymptomatic participants 87.39±28.10 vs. 72.11±22.74 respectively, showing significance ($p = 0.027$). Recovery time in the same trend was observed but this did not reach significance (Table 3).

Time(s)	OI	Non-OI	Sig. (p)
t _{START}	87.39±28.10	72.11±22.74	0.027
t _{RECOVERY}	70.92±18.82	69.86±18.00	>0.05

Table 3. Start and recovery time in seconds (s).

On the other hand, the maximum and minimum values at the adaptation to exercise and recovery times were calculated. In this analysis, symptomatic OI group showed higher minimum values in both stages, whereas in the asymptomatic OI participants showed higher maximum values, at the starting of exercise and recovery phases but they were only the minimum values which illustrated statistical significant differences (Table 4).

Values (bpm)	OI	Non-OI	Sig. (p)
MAX _{START}	104.74±11.52	106.73±13.81	>0.05
MIN _{START}	77.90±12.72	71.43±13.24	0.031
MAX _{RECOVER}	112.43±15.35	113.47±14.72	>0.05
MIN _{RECOVERY}	91.66±14.03	84.58±14.28	0.035

Table 4. Maximum and minimum values in (bpm).

In addition, the difference between the maximum and minimum values obtained at each stage were also analysed. *Diff_{START}* measures were greater in the asymptomatic OI group if we compared to the symptomatic OI group. Similarly, the *Diff_{RECOVERY}* showed an identical trend between both groups, symptomatic and asymptomatic OI participants (Table 5).

HR difference (bpm)	OI	Non-OI	Sig. (p)
Diff_{START}	26.84±10.06	35.30±12.37	0.003
Diff_{RECOVERY}	20.77±10.59	28.88±12.32	0.007

Table 5. Difference between maximum and minimum values in (bpm).

4.2. Pre-exercise, active phase and post-exercise analysis.

Moreover, the average of each phase was calculated and differences between both groups were analyzed. Owing to this fact, the average of HR values showed statistically significant differences in phase 1 and phase 5 if we compared symptomatic OI and asymptomatic OI participants. In both stages *pre-exercise* and *post-exercise*, the symptomatic OI group illustrated higher values of HR with statistical significance ($p=0.019$) in phase 1 and ($p=0.022$) in phase 5 (Table 6).

HR (bpm)	OI	Non-OI	Sig. (p)
Phase 1	78.87±11.78	72.09±10.72	0.019
Phase 5	94.11±15.25	86.10±14.92	0.022

Table 6. Phase 1 and Phase 5 comparing both groups.

Nevertheless, the main differences were observed comparing the *active phase* (phase 3) with the participants were standing still, (phases 1 and 5). In both cases, the

asymptomatic group showed higher differences between phases (Table 7).

HR difference (bpm)	OI	Non-OI	Sig. (p)
Phase 3-Phase 1	27.73±10.46	34.05±35.17	0.044
Phase 3-Phase 5	12.49±9.75	21.16±12.27	0.038

Table 7. Difference between active phase and pre-exercise and post-exercise stages.

5. Discussion

We assessed the hemodynamic changes that can occur in symptomatic OI patients during exercise. Owing to this fact, the starting of exercise and recovery stages times were also analysed during six minutes walking distance test.

In both groups, the time of adaptation to exercise was higher than the recovery time. However, these intervals were very similar in the asymptomatic OI participants. In contrast to the symptomatic OI group, who showed an approximate difference between adaptation to exercise stage (phase 2) and recovery stage (phase 4) of 16 seconds (Table 2). Moreover, symptomatic OI patients employed more time at the starting of exercise and recovery stages if we compare it with asymptomatic OI participants (Table 3). This different behaviour may be explained by other studies which illustrated that an attenuated HR recovery from the active stand may reflect dysregulation of the parasympathetic branch of the autonomic nervous system because parasympathetic inhibition is largely responsible for the initial surge in HR after the stand, whereas parasympathetic reactivation is thought to be responsible for the speed of HR recovery in the early phase of recovery. Thus, a slower HR recovery was associated with a 10% increase in the hazard of all cause mortality [17-20]. This conclusion could be linked to the results obtained in other articles which carried out a study of active and passive stand by nonlinear methods in symptomatic OI patients, showing a decrease in the temporal irreversibility in the recovery phase in this pathological group [21].

The maximum values of HR achieved in these stages were very similar in both groups, but the asymptomatic OI participants illustrated higher maximum values. On the other hand, the minimum HR values observed at the starting of exercise and recovery stages reflected major differences between symptomatic and asymptomatic OI groups, being the symptomatic OI participants who showed higher minimum values in both stages. The asymptomatic group illustrated higher differences between the maximum and minimum values reached in both stages if we compared with the symptomatic OI patients (Table 5). This results are coherent with previous studies, which showed a decrease in the maximum values in patients with heart failures and higher minimum values compared with control group during active stand [18].

The symptomatic OI participants showed higher averages values of HR in Phase 1 and Phase 5. However, the

difference between the active phase and pre-exercise and post-exercise phases was greater in the asymptomatic group (Table 7). Other articles showed the same trend which illustrated greater differences in the mean values of HR during active and passive stands [22].

As conclusion, this study provides important information hemodynamic parameters and can be helpful for description of the hemodynamic changes that occur during OH and it can be helpful to identify the mechanism that mediate OI which is of clinical importance because OI is a recognised risk factor for falls and impairment of functional status, especially in women.

Acknowledgments

This work was supported by the Castilla-La Mancha Research Scheme (PPII-2014-024-P).

References

- [1] L Guasti, LT Mainardi, G Baselli, C Simoni, M Cimpanelli, SS Braga, R Pedretti, L Castiglioni, L Maroni, R Codari, et al. Components of arterial systolic pressure and rr-interval oscillation spectra in a case of baroreflex failure, a human open-loop model of vascular control. *Journal of human hypertension*, 24(6):417–426, 2010. Review of telemedicine in Uzbekistan. *Journal of Telemedicine and Telecare*, vol 11, sup 3, 2005, pp 135-9 (ISSN: 1357-633X).
- [2] Viviane Santos L'opez Droguett, Amilton da Cruz Santos, Carlos Eduardo de Medeiros, Douglas Porto Marques, Leone Severino do Nascimento, and Maria do Socorro Brasileiro-Santos. Cardiac autonomic modulation in healthy elderly after different intensities of dynamic exercise. *Clinical interventions in aging*, 10:203, 2015.
- [3] Kenneth R Turley and Jack H Wilmore. Cardiovascular responses to treadmill and cycle ergometer exercise in children and adults. *Journal of Applied Physiology*, 83(3):948–95 7, 1997.
- [4] NM Kaplan, E Braunwald, DP Zipes, and P Libby. Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. Heart disease: a textbook of cardiovascular medicine, 1992.
- [5] P Hiitola, H Enlund, R Kettunen, R Sulkava, and S Hartikainen. Postural changes in blood pressure and the prevalence of orthostatic hypotension among home-dwelling elderly aged 75 years or older. *Journal of human hypertension*, 23(1):33–39, 2009.
- [6] Ar Kar Aung, Susan J Corcoran, Vathy Nagalingam, Eldho Paul, and Harvey H Newnham. Prevalence, associations, and risk factors for orthostatic hypotension in medical, surgical, and trauma inpatients: an observational cohort study. *The Ochsner Journal*, 12(1):35–41, 2012.
- [7] Anupama Gangavati, Ihab Hajjar, Lien Quach, Richard N Jones, Dan K Kiely, Peggy Gagnon, and Lewis A Lipsitz. Hypertension, orthostatic hypotension, and the risk of falls in a community-dwelling elderly population: The maintenance of balance, independent living, intellect, and zest in the elderly of boston study. *Journal of the American Geriatrics Society*, 59(3):383– 389, 2011.
- [8] Edward Heitterachi, Stephen R Lord, Phillip Meyerkort, Ian McCloskey, and Richard Fitzpatrick. Blood pressure changes on upright tilting predict falls in older people. *Age and ageing*, 31(3):181–186, 2002.
- [9] Germaine C Verwoert, Francesco US Mattace-Raso, Albert Hofman, Jan Heeringa, Bruno HC Stricker, Monique Breteler, and Jacqueline Wittman. Orthostatic hypotension and risk of cardiovascular disease in elderly people: the rotterdam study. *Journal of the American Geriatrics Society*, 56(10):1816–1820, 2008.
- [10] Chiara Mussi, Andrea Ungar, Gianfranco Salvioli, Carlo Menozzi, Angelo Bartoletti, Franco Giada, Alfonso Lagi, Irene Ponassi, Giuseppe Re, Raffaello Furlan, et al. Orthostatic hypotension as cause of syncope in patients older than 65 years admitted to emergency departments for transient loss of consciousness. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 64(7):801–806, 2009.
- [11] Chie W Fan, George M Savva, Ciaran Finucane, Hilary Cronin, Claire O'Regan, Rose A Kenny, et al. Factors affecting continuous beat-to-beat orthostatic blood pressure response in community-dwelling older adults. *Blood pressure monitoring*, 17(4):160–163, 2012.
- [12] Heather Edgell, Andrew Donald Robertson, and Richard L Hughson. Hemodynamics and brain blood flow during posture change in younger women and postmenopausal women compared with age-matched men. *Journal of Applied Physiology*, 112(9):1482–1493, 2012.
- [13] Roman Romero-Ortuno, Lisa Cogan, Chie Wei Fan, and Rose Anne Kenny. Intolerance to initial orthostasis relates to systolic bp changes in elders. *Clinical Autonomic Research*, 20(1):39–45, 2010.
- [14] Rose Anne Kenny, Terrance Dishongh, Fiona Newell, and C Ni Scanail. Research to reduce falls in older people: the tril centre. *Geriatr Med*, 39:326–327, 2009.
- [15] Breda Cullen, Sabina Fahy, Conal J Cunningham, Robert F Coen, Irene Bruce, Elaine Greene, Davis Coakley, J Bernard Walsh, and Brian A Lawlor. Screening for dementia in an irish community sample using mmse: a comparison of norm-adjusted versus fixed cut-points. *International journal of geriatric psychiatry*, 20(4):371–376, 2005.
- [16] Angela May Iwama, Geisa Nascimento de Andrade, Patricia Shima, Suzana Erico Tanni, Irma de Godoy, and Victor Zuniga Dourado. The six-minute walk test and body weight-walk distance product in healthy brazilian subjects. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 42(11):1080–1085, 2009.
- [17] Wouter Wieling, CT Paul Krediet, Nynke Van Dijk, Mark Linzer, and Michael E Tschakovsky. Initial orthostatic hypotension: review of a forgotten condition. *Clinical science*, 112(3):157–165, 2007.
- [18] Katsuji Imai, Hideyuki Sato, Masatsugu Hori, Hideo Kusuoka, Hitoshi Ozaki, Hiroshi Yokoyama, Hiroshi Takeda, Michitoshi Inoue, and Takenobu Kamada. Vagally mediated heart rate recovery after exercise is accelerated in athletes but blunted in patients with chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 24(6):1529–1535, 1994.
- [19] Prince J Kannanketil, Francis K Le, Alan H Kadish, and Jeffrey J Goldberger. Parasympathetic effects on heart rate recovery after exercise. *Journal of investigative medicine*, 52(6):394–401, 2004.
- [20] Cathal McCrory, Lisa F. Berkman, Hugh Nolan, Neil O'Leary, Margaret Foley, and Rose Anne Kenny. Speed of heart rate recovery in response to orthostatic challenge. *Circulation Research*, 119(5):666–675, 2016.
- [21] M. Hortelano, R. B. Reilly, and R. Cervigón. Multiscale time irreversibility to predict orthostatic intolerance in older people. In 2016 IEEE Statistical Signal Processing Workshop (SSP), pages 1–5, June 2016.
- [22] Fernando García-Salmerón, Richard B Reilly, Lisa Cogan, José Millet, and Raquel Cervigón. Haemodynamic parameters for assessment of orthostatic intolerance in older people. In *Computing in Cardiology 2013*, pages 1111–1114. IEEE, 2013.

Evolución de la frecuencia dominante en fibrilación auricular accidental en el tratamiento con vernakalant

E. Simarro Mondejar¹, J. Julià¹, F. Castells Ramón¹, S. Jiménez-Serrano¹, C. J. Calvo¹, A. Fontenla², M. López-Gil², J. Millet Roig¹

¹ Instituto ITACA. Universitat Politècnica de València. Camino de vera s/n, 46022 València, España
(elsimon@teleco.upv.es; jmillet@eln.upv.es)

² Unidad de Arritmias y Electrofisiología Cardíaca, Servicio de Cardiología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid, España

Resumen

En este trabajo se ha realizado un análisis de la frecuencia dominante durante fibrilación auricular (FA) en pacientes tratados con un nuevo fármaco antiarrítmico, vernakalant, indicado para la reversión de FA de reciente comienzo. Para el presente estudio, se han empleado señales de ECG de superficie e intracavitarias (EGM, procedentes de un catéter duodecapolar alojado en la aurícula derecha) de 7 pacientes. Mediante el preprocesado adecuado a cada tipo de señal (método de Botteron para señales de EGM y extracción de actividad auricular mediante cancelación de componentes ventriculares en las señales de ECG) se ha obtenido la evolución de la frecuencia dominante desde que comienza la administración del fármaco hasta que el paciente sale de FA. Posteriormente, se han ajustado dichos valores a una función exponencial, obteniéndose ciertos parámetros para determinar si el ajuste es adecuado. Destacan dos grupos: uno con un tiempo más largo hasta la reversión a ritmo sinusal y un segundo con un tiempo más corto, presentando ambos un comportamiento diferente en el ajuste exponencial.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es una de las arritmias cardíacas más frecuentes y su prevalencia aumenta con la edad [1]. Se caracteriza por una activación rápida e irregular del miocardio auricular (Figura 1).

La aparición de la FA durante estudios electrofisiológicos (EEF) es frecuente, pudiendo prolongar y dificultar los mismos [2]. En este contexto, existen distintas estrategias para la reversión a ritmo sinusal [2][3][4]. Vernakalant es un fármaco antiarrítmico que actúa inhibiendo selectivamente los canales de potasio en el miocardio auricular, así como una inhibición frecuencia y voltaje dependiente de los canales de sodio. Esto prolonga tanto el periodo refractario como la velocidad de conducción del miocardio auricular disminuyendo la frecuencia auricular y favoreciendo la reversión a ritmo sinusal. La eficacia de vernakalant, así como su acción rápida y selectiva sobre el miocardio auricular hacen que presenten un perfil más favorable que otros fármacos en el contexto de un EEF [5].

En cuanto al procesado de señal en FA, el parámetro principal que se obtiene es la frecuencia dominante. Para poder caracterizar la FA existen dos líneas: realizar el

procesado sobre las señales externas de ECG, para lo que se necesita una extracción de la actividad auricular [6] o, a partir de señales intracavitarias (electrogramas), donde no es necesaria una extracción previa de la actividad auricular [7].

2. Materiales

En el presente estudio se han analizado los registros de 7 pacientes que presentaron un episodio de FA durante un procedimiento de ablación de un flutter común. En todos los pacientes, la administración de vernakalant logró la reversión a ritmo sinusal, evitando así la necesidad de una cardioversión eléctrica. [2].

Para cada paciente se dispuso del registro de las 12 derivaciones del ECG de superficie, así como de los electrogramas intracavitarios (EGM) obtenidos a través de un catéter duodecapolar alojado en la aurícula derecha. Estos registros han sido adquiridos con una frecuencia de muestreo de 1000 Hz. En un caso en particular no se dispone de señales EGM ya que el paciente portaba un marcapasos y no se pudo realizar el registro.

3. Métodos

El procedimiento llevado a cabo en el tratamiento con vernakalant consiste en la administración de una primera dosis de 10 minutos, y luego una segunda a los 15 minutos en caso de que no haya reversión. La primera dosis no se acorta por el hecho de que revierta antes la FA.

Se ha realizado un análisis de la frecuencia dominante a lo largo del tiempo durante el tratamiento con vernakalant. Para ello se han seleccionado dos señales de cada registro: una de ECG y otra de EGM.

3.1. Preprocesado

El preprocesado se ha realizado seleccionando el intervalo de interés (durante vernakalant, antes del tratamiento, etc.). Para obtener la evolución con la frecuencia se ha seleccionado el intervalo comprendido entre el inicio del tratamiento con vernakalant y el final de la FA.

En el caso de la señal intracavitaria (DUO), se ha utilizado el método de Botteron [7]. Primero se ha realizado un filtrado paso banda butterworth de orden 3

entre 40 Hz y 250 Hz. El siguiente paso es un rectificado de la señal y por ultimo un filtrado paso bajo con un filtro butterworth de orden 3 a una frecuencia de 20 Hz.

Para la extracción de la actividad auricular se ha realizado una cancelación de las componentes ventriculares sobre una única derivación (en este caso la señal V1) basándose en análisis de componentes principales (PCA) [8].

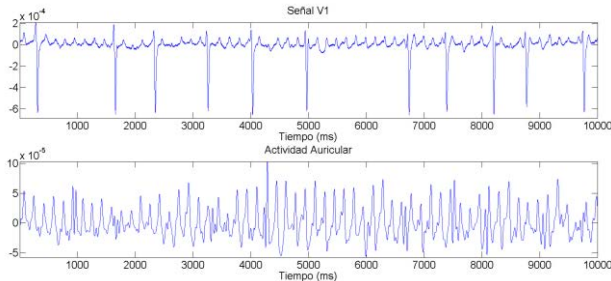


Figura 1. Arriba señal V1 con fibrilación auricular. Abajo actividad auricular una vez extraída.

En ambos casos, una vez se tiene la señal preprocesada se calcula el espectrograma con intervalos de 5000 muestras, con solape del 50 % y 2¹⁵ puntos. Finalmente nos quedamos con los valores máximos de frecuencia obtenidos por cada intervalo, generándose así una evolución de la frecuencia dominante de la FA a lo largo del tratamiento.

Paciente	FD _i (Hz)	FD _f (Hz)	Δf (Hz)	Ratio FD	Fin FA (min.)
A	5.98	3.66	2.29	1.63	39:50
B	4.51	3.41	1.1	1.32	29:15
C	4.27	3.29	0.98	1.29	8:06
D	5.73	3.78	1.95	1.51	2:10
E	4.76	3.66	1.1	1.3	41:31
F	5.98	3.9	2.08	1.53	34:53
G	6.1	4.63	1.47	1.32	6:06
Media ± desv.tip	5.33 ± 0.78	3.76 ± 0.44	1.58 ± 0.53	1.41 ± 0.13	-

Tabla 1. Parámetros frecuenciales, tiempo necesario para salir de FA en minutos desde inicio de vernakalant y valor de media ± desviación típica del conjunto de 7 pacientes en V1.

3.2. Parámetros frecuenciales

Se ha definido el parámetro Frecuencia Dominante Inicio (FD_i) como el valor de frecuencia de FA en el instante anterior al comienzo del tratamiento con vernakalant. La Frecuencia Dominante Fin (FD_f) se define como el último valor de frecuencia de FA que se obtiene antes de que el paciente recupere el ritmo sinusal.

Para encontrar una relación entre estos dos valores, se ha definido por un lado el decremento de frecuencia Δf

según la ecuación 1 y Ratio FD según ecuación 2.

$$\Delta f = FD_i - FD_f \quad (1)$$

$$Ratio\ FD = \frac{FD_i}{FD_f} \quad (2)$$

3.3. Ajuste exponencial

Para poder caracterizar de alguna manera la tendencia de valores, se ha realizado un ajuste a una exponencial mediante la función fit de MATLAB [9]. De dicho ajuste se ha definido como parámetro la constante de tiempo τ definida según la ecuación 3, siendo A una constante.

$$f(t) = Ae^{-t/\tau} \quad (3)$$

A partir de la misma función de MATLAB, también se han obtenido el error de determinación R² y error cuadrático medio RMSE para poder determinar la calidad del ajuste.

4. Resultados

En todos los pacientes se produce una reversión a ritmo sinusal tras la administración del fármaco, si bien con tiempos diferentes. Como puede verse en la Tabla 1, hay un grupo de pacientes en los que la reversión se produce aproximadamente pasados los 30 ó 40 minutos de la administración del fármaco, mientras que en el resto se produce a los pocos minutos. Por tanto, se han dividido los pacientes en dos grupos: duración larga (pacientes A, B, E y F) y duración corta (pacientes C, D y G).

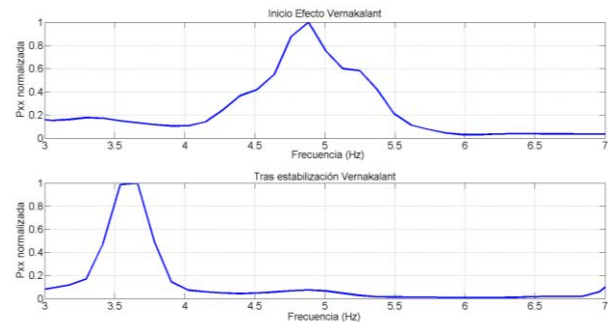


Figura 2. Variación frecuencia dominante en señal V1 para paciente A. Arriba al comienzo con vernakalant y abajo tras la estabilización.

Como se ha comentado en el apartado anterior, se ha obtenido la evolución de la frecuencia dominante a lo largo del tratamiento. En la Tabla 1 se pueden ver los parámetros frecuenciales obtenidos, comprobándose una disminución de la frecuencia dominante, con frecuencias de partida de 5.33 ± 0.79 Hz y terminando el episodio de FA con frecuencias de 3.76 ± 0.44 Hz. En cuanto a la disminución de esta frecuencia, se ha cuantificado con el valor de Δf (1.58 ± 0.53 Hz) y valores de Ratio FD de 1.41 ± 0.13 Hz.

En la Figura 2 puede verse la evolución del espectro de la señal V1 del paciente A desde el inicio del efecto de vernakalant hasta el fin de la FA. Destaca el estrechamiento del lóbulo (aumento de la concentración espectral) y su disminución en frecuencia.

Un efecto que se ha observado es que, en los pacientes con duración larga, aparece un periodo de reacción (Figura 3) en el que el efecto de vernakalant no ocurre inmediatamente. En la Figura 3 se puede ver como se produce una disminución rápida de la frecuencia a partir de los 400 s tras la administración del fármaco. Anterior a eso hay poca variación o la misma es muy lenta. Otro efecto que se puede apreciar en la imagen es como los valores de frecuencia se concentran una vez hace efecto vernakalant (en torno a 600 s no hay apenas dispersión).

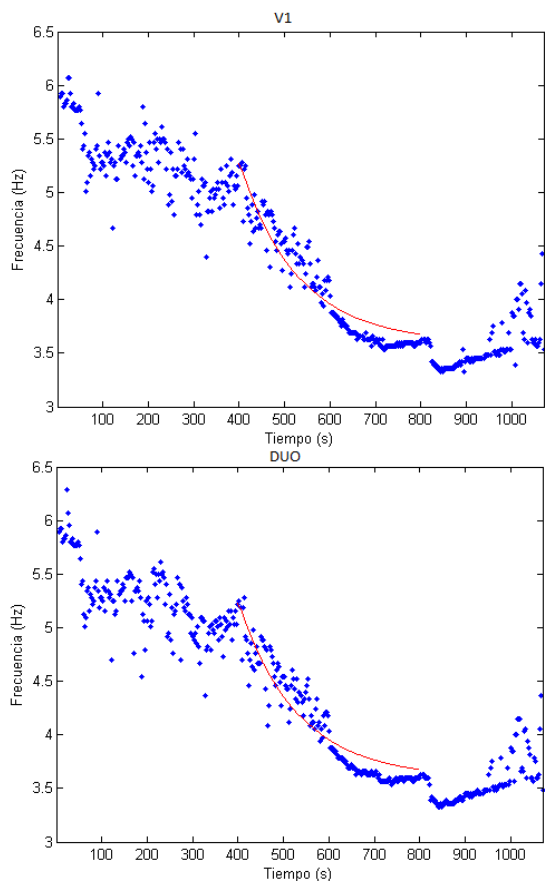


Figura 3. Evolución de la frecuencia dominante para el paciente A en señal V1 (arriba) y DUO (abajo). En rojo, ajuste exponencial.

Paciente	τ (s)	R^2	RMSE
A	134.22	0.88	0.17
	130.84	0.88	0.17
B	125.33	0.81	0.14
	124.37	0.81	0.14
E	209.52	0.69	0.21
	244.22	0.42	0.37
F	263.64	0.44	0.46
	---	---	---
Media \pm desv.tip	183.18 \pm 65.61	0.71 \pm 0.19	0.24 \pm 0.15
	166.48 \pm 67.41	0.71 \pm 0.15	0.23 \pm 0.13

Tabla 2. Parámetros ajuste exponencial pacientes duración larga para señal V1 (arriba) y una de las señales DUO (abajo)

En la Figura 3, abajo, se muestra la evolución de la frecuencia en la señal DUO para el paciente A. Comparando con la señal V1 (misma figura, arriba) se ve que la tendencia y los valores son similares, por lo que se obtiene el mismo resultado en señales internas que externas.

En los pacientes con duración corta no se produce ese tiempo de reacción, sino que directamente la frecuencia va decayendo (Figura 4) y los valores de frecuencia no llegan a concentrarse antes de que se termine el episodio.

Al realizar el ajuste exponencial a los valores de frecuencias obtenidos, se obtuvieron los valores expuestos en las Tablas 2 y 3 para los pacientes de duración larga y corta respectivamente. Estos valores de frecuencias y de ajuste obtenidos con la señal de ECG y la señal intracavitaria son bastante similares. Teniendo en cuenta los resultados en la señal V1, para los pacientes de duración larga se obtienen valores de R^2 de 0.71 ± 0.19 mientras que el grupo de duración corta tiene valores de R^2 de 0.29 ± 0.15 . Destaca el caso del paciente F, que a pesar de ser del grupo de duración larga tiene una R^2 de 0.44, más baja que el resto del grupo y al cual, no se ha podido realizar el ajuste en la señal intracavitaria.

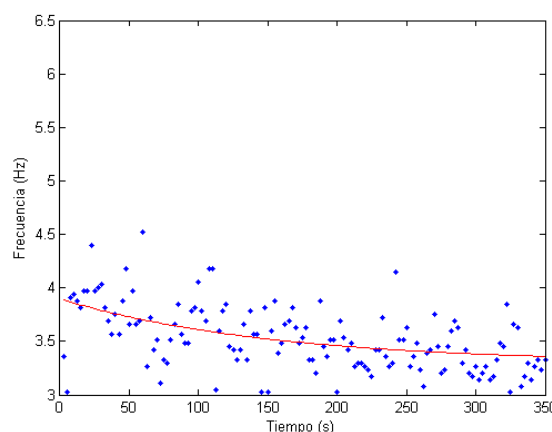


Figura 4. Evolución de la frecuencia dominante para el paciente C en la señal V1. En rojo, ajuste exponencial.

Paciente	τ (s)	R^2	RMSE
C	210.61	0.27	0.26
	229.18	0.38	0.28
D	130.29	0.16	0.33
	185.75	0.09	0.45
G	288.61	0.45	0.41
	---	---	---
Media \pm desv.tip	208.83 \pm 79.16	0.29 \pm 0.15	0.34 \pm 0.07
	207.46 \pm 30.70	0.24 \pm 0.21	0.36 \pm 0.12

Tabla 3. Parámetros ajuste exponencial pacientes duración corta para señal V1 (arriba) y una de las señales DUO (abajo)

5. Discusión

A la vista de los resultados de la variación de frecuencia se puede decir que vernakalant sí tiene efecto sobre la

frecuencia dominante de la FA, haciendo que disminuya y que su espectro se estreche. También consigue en gran medida que los valores se vuelvan menos dispersos (Figuras 3).

En lo que respecta a la terminación, en los casos cortos, parece que existe una tendencia descendente de la frecuencia dominante aunque la dispersión es elevada. En los registros más largos, el comportamiento no sigue un patrón establecido: en algunos casos la frecuencia tiende a estabilizarse y en otros se produce un repunte.

Los valores de ajuste y frecuencias que se obtienen en cada tipo de señal son muy similares. A partir de esto se podría concluir que con métodos no invasivos, como el ECG, se podría obtener el valor de frecuencia dominante para la FA.

Es interesante la diferencia presentada entre ambos grupos de pacientes. Por un lado los pacientes con duración corta se ajustan bastante mal a la exponencial ya que se obtienen valores de R^2 muy bajos por lo que los valores de τ del ajuste no serían válidos. Puede que en el caso de estos pacientes el intervalo sea tan breve que haga que el ajuste exponencial no sea el correcto (no llega a parecerse realmente a una exponencial).

En el caso de los pacientes de duración larga, se obtienen valores de R^2 bastante buenos pudiéndose decir que el parámetro τ sí que sería válido. En estos casos podría ser que esa segunda dosis del tratamiento de vernakalant si sea necesaria (incluso necesitando un tiempo de reacción) y de ahí que se pueda ver el efecto del mismo. En este grupo también cabe comentar el caso del paciente F. Es un paciente con una duración en FA larga, sin embargo el ajuste es peor, con una R^2 de 0.44. Esto puede ser debido a que los valores de frecuencia tenían más dispersión y no llega un punto en el cual se concentran por lo que el ajuste exponencial no es tan bueno. Otro motivo puede ser una mala calidad del registro, haciendo que la obtención de los valores de frecuencia no sea tan buena y dificulte el ajuste.

6. Conclusiones

En este trabajo se han analizado señales cardiacas de 7 pacientes a los que se les ha administrado vernakalant para el tratamiento de un episodio de FA de aparición durante un EEF. Los registros analizados son señales de electrogramas (EGM) y señales de electrocardiograma (ECG). Realizando un análisis de la frecuencia dominante de la FA durante el tratamiento en los dos tipos de señal, se ha llegado a la conclusión que en ambas señales la evolución de la frecuencia dominante es la misma, es decir, el valor de la frecuencia va disminuyendo hasta la reversión a ritmo sinusal. Además de disminuir, los valores de frecuencia están más concentrados (menos dispersión). Dicha tendencia decreciente se puede ajustar

a una exponencial en el caso de pacientes que necesitan que el tratamiento sea de una duración más elevada. En los casos en los que la reversión de FA se produce antes y no es necesaria una segunda dosis, el ajuste exponencial no es tan bueno. Por otro lado, los valores obtenidos para las señales de EGM y de ECG son muy similares, lo cual permite obtener valores de frecuencias dominantes en FA de una manera no invasiva.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado en parte por el Ministerio de Economía y Competitividad: Programa Promoción de Empleo Joven e Implantación de la Garantía Juvenil 2014 (PEJ-2014-A-36316), el proyecto AICO/2015/102 de la Generalitat Valenciana y el proyecto PROMETEOII/2014/037.

Referencias

- [1] Garcia-Seara J., Gonzalez-Juanatey J. R., Epidemiología de la fibrilación auricular y comorbilidades asociadas. *Rev Esp Cardiol Supl.* 2012; 12(B):3-10.
- [2] Juliá J., et al. Utilidad de vernakalant en la estabilización del ritmo sinusal durante procedimientos de ablación con catéter. *Rev Esp Cardiol.* 2016; 69:708-9.
- [3] Woods C. E., Olgin J., Atrial Fibrillation Therapy Now and in the Future: Drugs, Biologicals and Ablation. *Circ Res.* 2014; 114:1532-1546.
- [4] Pratt C., Roy D., Torp-Pedersen C., Wyse G., Toft E., Juul-Moller S., Retyk E., Drenning D., Usefulness of vernakalant hydrochloride injection for rapid conversion of atrial fibrillation. *Am J Cardiol* 2010; 160:1277-1283
- [5] Ferrero A., Chorro F. J., Cánoves J., Mainara L., Blasco E., Such L., Efectos de la flecainida sobre las velocidades de conducción longitudinal y transversal en el miocardio ventricular. Estudio experimental. *Rev Esp Cardiol* 2007; 60(3):315-318.
- [6] Rieta J.J., Castells F., Sanchez C., Zarzoso V., Millet J., Atrial Activity Extraction for Atrial Fibrillation Analysis Using Blind Source Separation. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 2004; 51(7):1176-1186.
- [7] Botteron G., Smith J, A technique for measurement of the extent of spatial-organization of atrial activation during atrial fibrillation in the intact human heart. *IEEE Trans Biomed Eng* 1995; 42:579-586.
- [8] Castells F., Rieta J.J., Millet J., and Igual J., Aplicación del análisis de Componentes Principales al Estudio de Arritmias Auriculares, XVIII Simposium Nacional de la Unión Científica Internacional de Radio (URSI 2003), vol. 18 pp. 1052-1055, La Coruña (Spain), Sept. 2004
- [9] Página web de documentación de MathWorks sobre la función fit <http://es.mathworks.com/help/curvefit/fit.html> (Consultada: Septiembre 2016).

Pósters 1

Miércoles 23 de Noviembre

Desarrollo de un sistema de adquisición de señales electrofisiológicas

R. Albert¹, A. M. Climent², M. Rodrigo¹, M. S. Guillem¹

¹ Instituto ITACA, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, ramalmar@epsa.upv.es

² Servicio de Cardiología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España

Resumen

Durante los últimos años, han surgido novedosas técnicas de experimentación en el ámbito de la cardiología con el fin de conocer mejor los orígenes y perpetuación de diversas enfermedades cardíacas. No obstante, estos experimentos requieren un complejo sistema que permita la adquisición simultánea de una gran multitud de señales electrofisiológicas con una alta capacidad de muestreo y un bajo nivel de ruido. Sin embargo, los actuales sistemas comerciales no permiten el acceso a la información obtenida en tiempo real. En el presente trabajo se ha desarrollado y validado un sistema de adquisición de 256 canales para potenciales extracelulares basado en componentes electrónicos comercialmente disponibles. Además, permite la conexión de electrodos individuales o catéteres intracavitarios para el mapeo eléctrico de la aurícula. Un software personalizado fue programado en C++ para controlar el sistema utilizando MATLAB

1. Introducción

Las enfermedades cardiovasculares se están convirtiendo en la mayor causa de muerte en los países desarrollados. [1]. Por esta razón, diversas técnicas de mapeo eléctrico han aparecido a lo largo de los últimos años. Uno de estas técnicas es el BSPM (*Body Surface Potencial Mapping*) utilizado para el estudio de la actividad eléctrica no invasiva [2] y que permite adquirir una mayor cantidad de información que un ECG (Electrocardiograma) estándar. Esta técnica utiliza desde 32 a 256 electrodos distribuidos alrededor de la superficie del torso con el fin de obtener toda la información eléctrica del corazón disponible en la superficie del cuerpo, lo cual mejora la detección de posibles enfermedades cardíacas. Estas técnicas han sido utilizadas para detectar regiones dominantes en la aurícula

en pacientes con fibrilación auricular [3-5] y para la identificación de pacientes con riesgo de taquicardia ventricular [6-7]. Alternativamente, el mapeo cardíaco puede hacer uso de catéteres intracavitarios posicionando un catéter con múltiples electrodos en el interior del corazón. Estas técnicas revelan información de la actividad eléctrica del corazón y pueden servir de guía durante procesos quirúrgicos cardíacos [8-11].

Estas técnicas requieren un complejo sistema electrónico para obtener simultáneamente una gran multitud de medidas de señales con una alta frecuencia de muestreo y un bajo nivel de ruido. No obstante, los dispositivos comercialmente disponibles son caros, no amigables a posibles modificaciones por parte del usuario y su software no permite acceso a la información recolectada en tiempo real.

Con el fin de superar estas limitaciones se ha desarrollado un sistema de adquisición y procesado de señales electrofisiológicas. Este sistema es capaz de adquirir hasta 256 canales de señales electrofisiológicas y es compatible tanto con electrodos individuales como por catéteres intracardiacos multipolares, con una frecuencia de muestreo mínima de 1Khz.

2. Métodos

La Figura 1 muestra un diagrama general del sistema diseñado. Este sistema consiste en un módulo de adquisición y una caja de interfaz para conectar los electrodos. Con el propósito de registrar y procesar las señales obtenidas, se ha implementado un software en C++ para interactuar con MATLAB.

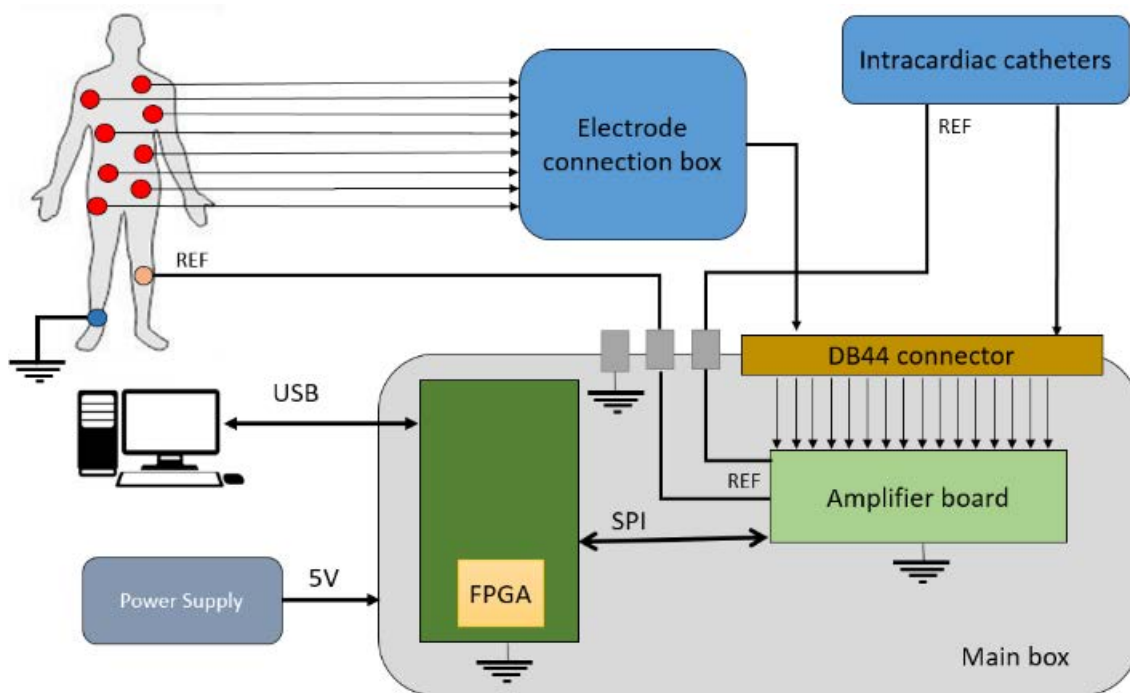


Figura 1. Diagrama del sistema

2.1 Módulo de adquisición

Este módulo contiene la placa principal y las etapas de amplificación. La conexión con los electrodos se realiza a través del frontal de la caja a través de conectores DB44 estándar. En la parte trasera se encuentra el conector de alimentación, la conexión USB, el interruptor de alimentación y un led de estado de funcionamiento. Para la adquisición de las señales han sido incorporadas 4 placas RHD2164 (Intan Technologies). Estas placas poseen hasta 64 canales de amplificación cada una, un bajo nivel de ruido y una frecuencia de muestro variable de 1kHz a 30 kHz. Además, incluye un convertor analógico-digital de 16 bits para la digitalización de la señal.

Con el fin de proporcionar una forma de gestionar los datos adquiridos por estas etapas de amplificación, una tarjeta USB RHD2000 (Intan Technologies) fue instalada. Esta tarjeta incluye una FPGA (Field-Programmable Gate Array) capaz de recoger la información de las diferentes etapas de amplificación y enviarlas al PC a través del puerto USB. Esta tarjeta permite controlar hasta 4 etapas de amplificación RHD2164.

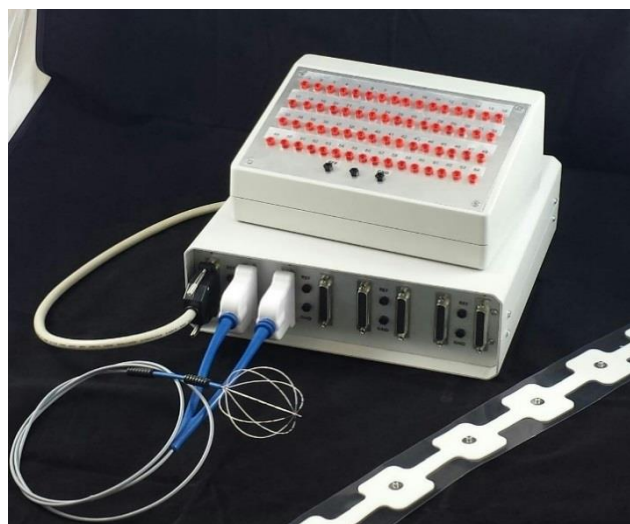


Figura 2. Sistema de adquisición completo

2.2 Módulo de conexión para registros BSPM

Con el fin de conectar la multitud de electrodos requeridos para un registro BSPM, se ha desarrollado un módulo de conexiones, como se observa en la figura 2. Este módulo es capaz de admitir hasta un máximo de 64 conexiones de banana para cada canal individual y 2 conexiones de masa adicionales. Estas dos conexiones de referencias están disponibles también en el módulo principal. Una posible configuración para los electrodos se muestra en la figura 3.

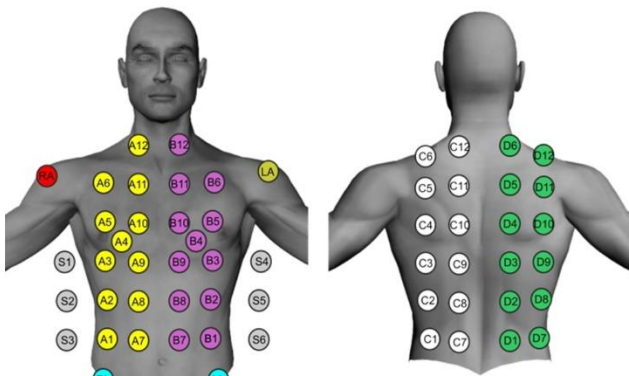


Figura 3. Posición de los electrodos de ECG para un registro BSPM.

2.3 Conexión con catéteres intracavitarios

Nuestro sistema soporta la conexión de un catéter de 64 electrodos (*Constellation, Boston, Scientific, Natick, MA, USA*) al módulo principal a través de una conexión compatible DB44. Esta característica permite el uso de este sistema para obtener la actividad eléctrica intracardiaca al mismo tiempo que un registro BSPM en tiempo real. La señal de referencia del catéter intracardiaco puede ser conectada a uno de los electrodos del mismo catéter o utilizar un catéter adicional de referencia. Esta conexión de referencia puede ser conectada directamente en el módulo principal.

2.3 Software

Con el fin de facilitar y simplificar la adquisición, visualización y procesado de las señales, se programó un software en C++ con el fin de trasladar el control del dispositivo y la adquisición de las señales a MATLAB. Este software en C++ crea un vínculo entre el dispositivo y MATLAB. Este vínculo permite el control de los parámetros de adquisición como la frecuencia de muestreo, inicio de la adquisición y tiempo de adquisición a través de scripts programados en MATLAB. Una vez la adquisición ha finalizado, las señales son almacenadas en MATLAB como una matriz de datos. El proceso de adquisición puede ser automatizado para la aplicación deseada utilizando scripts personalizados, permitiendo la adquisición en tiempo real con procesado.

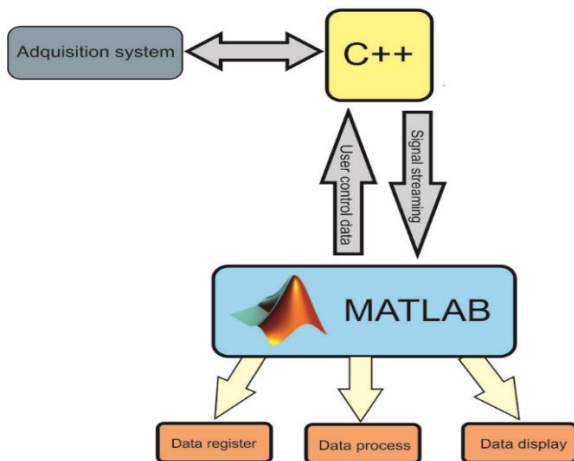


Figura 4. Diagrama del software de adquisición.

3. Resultados

Con el fin de conocer el error en la lectura, se comparó una señal sintetizada con la señal registrada en el sistema de adquisición, tal y como se muestra en la Figura 5. Esta señal de referencia fue sintetizada utilizando un Arduino Mega y un DAC (*Digital to Analog Converter*) conectado a una entrada de amplificación del sistema a través de un divisor de tensión 1/1000.

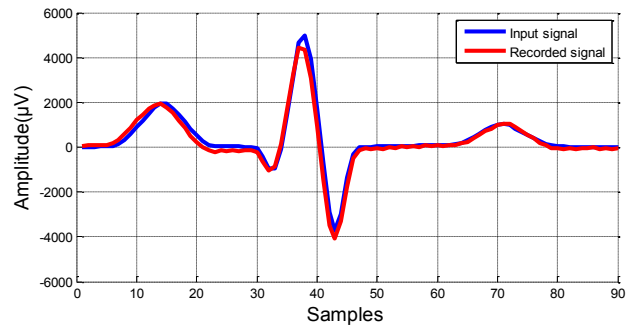


Figura 5. Comparación entre la señal sintetizada y la señal registrada.

La señal registrada fue comparada con la señal original sintetizada. La media de la diferencia entre las dos señales fue de $1.81 \pm 1.95\%$.

Finalmente, para comprobar el correcto funcionamiento de este sistema en condiciones reales, se realizó un registro BSPM, según la configuración de electrodos mostrada en la Figura 3. Un total de 59 electrodos fueron conectados a la piel: 54 electrodos para la distribución BSPM, 3 electrodos para el centro terminal de Wilson en los hombros y pierna izquierda, un electrodo de referencia en la pierna izquierda y un electrodo de masa en la pierna derecha. La figura 6 muestra la señal obtenida por el canal correspondiente al electrodo A10, que corresponde con la derivación V1. Además, en la figura se muestra la distribución de los potenciales utilizando todos los electrodos a lo largo de tres instantes de tiempo.

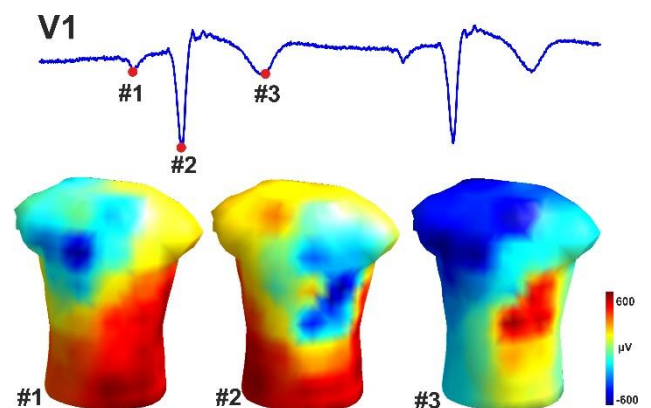


Figura 6. ECG en el electrodo A10 (superior) y mapas de potencial en 3 instantes de tiempo (inferior): (#1) despolarización auricular, (#2) despolarización ventricular y (#3) repolarización ventricular.

4. Discusión

En este trabajo se ha desarrollado y testado un sistema de adquisición de señales electrofisiológicas. Este sistema permite adquirir hasta 256 señales electrofisiológicas con una frecuencia de muestreo variable de 1kHz a 30 kHz, siendo también capaz de registrar diferentes tipos de señales incluyendo ECG y EGM. El sistema es compatible con electrodos individuales o catéteres intracavitarios, permitiendo la opción de realizar registros BSPM simultáneamente con registros invasivos. Finalmente, se ha implementado un software personalizado para controlar el dispositivo utilizando MATLAB, el cual permite controlar los parámetros de los registros.

Han sido conseguidas varias ventajas con este sistema respecto a los sistemas comerciales existentes. Mientras que los sistemas comerciales comúnmente restringen el acceso en tiempo real a las señales registradas, nuestro software proporciona acceso libre a la información recogida en tiempo real, la adquisición de datos permite el procesamiento en tiempo real de la información a través de scripts personalizados programados en MATLAB. Además, la reducción los costes de nuestro sistema comparado con los sistemas comerciales permitirá extender el uso de estas nuevas técnicas como el BSPM en la clínica práctica.

El sistema presentado debe ser probado en un escenario clínico de pacientes reales para asegurar su capacidad para ser utilizado en la práctica clínica.

Por último, nuestro sistema está en proceso de pasar la prueba de conformidad europea con el fin de comercializar el dispositivo.

5. Conclusión

En el presente trabajo se ha desarrollado un sistema de adquisición de señales electrofisiológicas. Los diferentes módulos que constituyen el sistema son actualizables y personalizables de acuerdo a las necesidades de cada aplicación. Además, el software dedicado permite a los investigadores la posibilidad de crear programas personalizados para adquirir y procesar la información obtenida en tiempo real. Este sistema es más económico que los sistemas comerciales similares, una característica muy importante para extender técnicas como el BSPM en la práctica clínica.

6. Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad: Programa Promoción de Empleo Joven e Implantación de la Garantía Juvenil 2014 (PEJ-2014-A-81398), Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Economía y Competitividad (PI13-01882, PI13-00903) y por el Ministerio de Ciencia e Innovación (Red RIC, PLE2009-0152)

Referencias

- [1] Baena JM, García JL, Tomás Pelegrina J, Martínez JL, Martín Peña R, González I, Quintana EM, Sajkiewicz M, Borona TA, Alvarez B, Forcadell P, Rovira M, Oller M. Cardiovascular disease epidemiology and risk factors in primary care. *Rev Esp Cardiol*, vol 58, sup 4, 2005, pp 367-73.
- [2] Rodrigo M, Pedrón-torrecilla J, Hernández I, Liberos A, Climent AM, Guillem MS. Data analysis in cardiac arrhythmias. *Methods Mol Biol*, vol 1246, 2015, pp 217-35.
- [3] Pedrón-Torrecilla J, Rodrigo M, Climent AM, Liberos A, Pérez-David E, Bermejo J, Arenal A, Millet J, Fernández-Avilés F, Berenfeld O, Atienza F, Guillem MS. Non-invasive Estimation of Epicardial Dominant High-Frequency Regions During Atrial Fibrillation. *J Cardiovasc Electrophysiol*, vol 11, sup 4, 2016, pp 435-42.
- [4] Guillem MS, Quesada A, Donis V, Climent AM, Mihi N, Millet J, Castells F. Surface Wavefront Propagation Maps: Non-invasive characterization of atrial flutter circuit. *International Journal of Bioelectromagnetism*, vol 11, sup 1, 2009, pp 22-26.
- [5] Guillem MS, Climent AM, Millet J, Arenal A, Fernández-Avilés F, Jalife J, Atienza F, Berenfeld O. Noninvasive localization of maximal frequency sites of atrial fibrillation by body surface potential mapping. *Circ Arrhythm Electrophysiol*, vol 6, sup 2, 2013, pp 294-301.
- [6] Hubley-Kozey C, Mitchell L, Gardner M, Warren J, Penny C, Smith E, Horacek B. Spatial features in body-surface potential maps can identify patients with a history of sustained ventricular tachycardia. *Circulation*, vol 92, 1995, pp 1825-1838.
- [7] Bailon R, Olmos B, Horacek M, Laguna P. Identification of patient at risk for ventricular tachycardia by means of body surface potential maps. *Conf. Computers in Cardiology*, vol 30, 2003, pp 217-220.
- [8] Atienza F, Climent AM, Guillem MS, Berenfeld O. Frontiers in Non-invasive Cardiac Mapping: Rotors in Atrial Fibrillation-Body Surface Frequency-Phase Mapping. *Card Electro-physiol Clin*, vol 7, sup 1, 2015, pp 59-69.
- [9] Nademanee K, McKenzie J, Kosar E, Schwab M, Sunsaneewitayakul B, Vasavakul T, Khunnawat C, Ngarmukos T. A new approach for catheter ablation of atrial fibrillation: mapping of the electrophysiologic substrate. *J Am Coll Cardiol*, vol 43, sup 11, 2004, pp 2044-53.
- [10] Atienza F, Almendral J, Jalife J, Zlochiver S, Ploutz-Snyder R, Torrecilla EG, Arenal A, Kalifa J, Fernández-Avilés F, Berenfeld O. Real-time dominant frequency mapping and ablation of dominant frequency gradients predicts long-term maintenance of sinus rhythm. *Heart Rhythm*, vol 6, sup 1, 2009, pp 33-40.
- [11] Sanders P, Berenfeld O, Hocini M, Jaïs P, Vaidyanathan R, Hsu LF, Garrigue S, Takahashi Y, Rotter M, Sacher F, Scavée C, Ploutz-Snyder R, Jalife J, Haïssaguerre M. Spectral analysis identifies sites of high-frequency activity maintaining atrial fibrillation in humans. *Circulation*, vol 112, sup 6, 2005, pp 789-97.

Summary

We present the design and development of a positron emission tomography (PET) detector module that could be used inside magnetic resonance imager (MRI). Critical factors compromising this combination have been studied and different solutions have been offered. Our design divides the detector module in two sections: one is the insert front-end that is placed inside the MRI and that comprises of a scintillator, a silicon photomultiplier and minimum analog electronics. The analog pulses are sent to the second section, the back-end digitalization and reconstruction module. The analog link is implemented using optical wireless communication (OWC) techniques. In this work we study how such a setting retains all the necessary characteristics for the detection and characterization of gamma scintillation events, providing sufficient communication quality with low consumption and minimizing the need for space. Possible multiplexing schemes for achieving the necessary transmission with less communication channels are also proposed and studied. A series of tests and measurements on different settings demonstrate the viability of this technique. When fully developed, it can provide a cost effective alternative for the industrial production of a flexible and customizable modular PET detector insert that can be applied to pre-existing small animal or human MRI settings, only minimally affecting the size of the MRI bore, without compromising the PET signal quality.

1. Introduction

Simultaneous multimodality imaging is a fast-growing field in clinical practice, as such modality combination reduces patient movement and co-registration errors. If the scanning and acquisition routine is simultaneous, imaging time is also reduced. Furthermore, since different imaging techniques provide complementary information, particular imagers, such as PET, can benefit greatly from such approaches, since PET provides only functional information, making the addition of anatomic and structural information very useful. In this context, hybrid PET/CT (X-ray computed tomography) scanners [1] have greatly improved the usefulness of PET. Nevertheless, the use of MRI systems can further enhance the utilization of PET, as, in comparison to CT, MRI does not use ionizing radiation, MRI acquisition settings can be tuned to provide ideal soft tissue contrast, and even though MRI also provides functional data, the sensitivity of PET is much higher than that of MRI (10^{-12} mol/L for PET vs. 10^{-5} mol/L for MR) [2]. The reason this technique is difficult to develop is because PET and MRI instruments interfere with each other when placed in the same gantry, as the standard PET electronics are sensitive to the magnetic field, while the PET device produces noise and aberrations in the MRI system. Furthermore, the

limited space makes the design of compatible detectors even more challenging.

With the introduction of MRI compatible silicon photomultipliers, a fundamental limitation is lifted allowing for the development of novel PET designs that can be used inside the high magnetic field. An approach that has rendered hopeful results concerns the development of an MR compatible PET insert front end, while a second unit outside the MRI bore houses the bulk of back end reconstruction electronics. Since one of the issues is the transmission of a big number of channels, alternative communication techniques are being studied [3]. However, optical wireless transmission techniques are yet to be explored, even though light fidelity (LiFi) communication is another rapidly growing approach in medical instrumentation [4].

2. Materials and methods

2.1 Optical wireless communication (OWC)

OWC techniques refer to visible/infrared light transmission of information. Vertical Cavity Surface Emitting Lasers (VCSEL) or light emitting diodes (LEDs) connected to the signal source provide fast, reliable and cost effective transmitters, while photodiodes act as receivers of the light signal, taking advantage either of direct line of sight or the diffuse reflection of the transmitted signal. We used a setting comprising by a VCSEL transmitter with a ball lens for focusing and a detector based on the Hamamatsu Si APD (S8664-20K) [5].

2.2 Test setting with silicon photomultipliers

In order to evaluate the quality of data transmission we simulated a LYSO scintillator pulse by the biexponential model $e^{-t/0.72} - e^{-t/43}$. With this test we established the efficiency and time jitter of the optical channel. A next test involved connecting the output of a Hamamatsu S10985 MPPC to the same setting and transmitting an amplified as well as a non-amplified analog pulse over a distance of 2 m. Finally, we connected the analog outputs of a prototype developed in our lab, housing four Hamamatsu MPPCs, an additive resistor network for the 64 channels [6] and a multiplexing network.

2.3 Multiplexing techniques

In order to further minimize number of communication channels, we developed a circuit that delays three of the four outputs of the resistor network with different analog delays of 100ns steps, in the concept of analog time division

multiplexing (ATDM) designs, showcasing a simple circuit that can take advantage of the signal's non continuous nature, only slightly deteriorating the dead time of the detector.

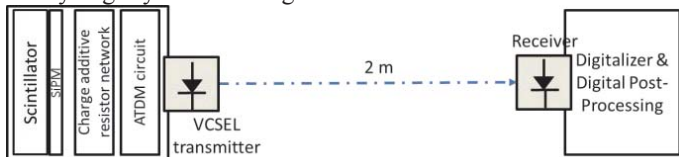


Figure 1. Schematic outline of the complete setting

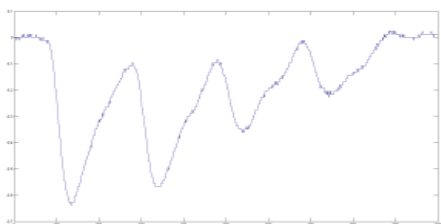


Figure 2. Single channel scintillation event as transmitted by ATDM OWC with 100 ns delay between the independent channels; units are arbitrary.

3. Results

3.1 Practical and optical link considerations

For the given setting with VCSEL and ball lens the line of sight has to be direct. The received signal strength 3dB deterioration threshold is at 12 mm on the transverse direction. This relation possibly will not be relevant for the application of very fast GaS LEDs. Another consideration concerns the power consumption of the insert. We show that a non-amplified output can also be directly transmitted without significant deterioration of the signal-to-noise ratio (figure 3), which is measured at around 22dB.

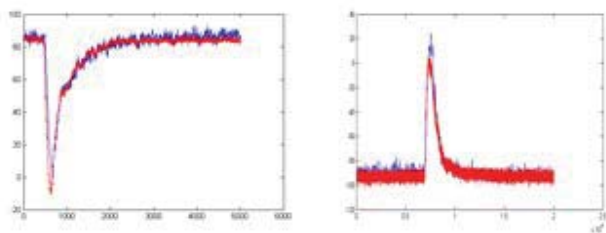


Figure 3. (left): Amplified input and output of the OWC setting; and (right) Non-amplified input and output. In both cases red is transmitted, blue is received; units are arbitrary and normalized for both pulses

3.2 Timing results

An initial test of the timing behavior of this link shows that the jitter of this communication technique has a mean value of 80ps, comparable to the timing resolution of the SiPM, rendering this technique not only sufficient for coincidence detection but also compatible with time of flight (TOF) scenarios. The bandwidth of transmission is 280MHz, sufficient for the analog output of SiPM, limited by the bandwidth of the receiver.

3.3 Energy resolution results

By comparing the normalized input to output integral of the scintillation pulse (figure 3) we calculate the average difference at 1%. Position error for the reconstruction of the events' location through anger logic schemes is at 7×10^{-3} . In figure 4 the spectrums of LYSO intrinsic radiation [7], before and after OWC are presented. The small difference between the two spectrums is attributed to the thresholding scheme, that is affected by the addition of noise as described above..

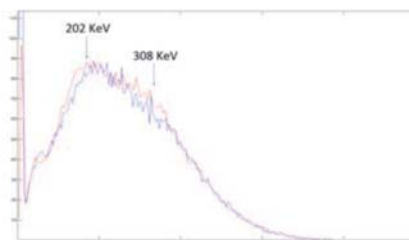


Figure 4.: Energy spectrums of intrinsic LYSO radiation through ATDM (blue) and ATDM+OWC (red)

4. Discussion- future work

The presented preliminary results showcase what can be a very useful application of OWC technologies in nuclear medicine imaging. We are currently developing a prototype of the front end with only passive components (except for the photodetector and the VCSEL), intending to use two modules like the ones proposed here for testing coincidence detection inside an MRI bore. Furthermore, more efforts on channel multiplexing, especially since such analog pulse optical transmission is also a novel concept without much prior art, are foreseen, by applying solutions from different fields of communications. Event reconstruction should be adapted to the chosen multiplexing scheme, something that is enabled by the independent nature of the architecture of the backend.

Nevertheless, the current prototype of the intended design shows the flexibility and potency of the development of a modular PET insert with minimal electronics and no integrated circuits. The analog output of SiPM is transmitted with OWC settings, rendering this solution superior to any wired proposals in terms of space saved inside the gantry, by not requiring direct contact or cabling between the front-end and back-end while preserving signal quality.

REFERENCES

- [1] Townsend, David W. "Combined PET/CT: The Historical Perspective." *Seminars in ultrasound, CT, and MR* 29.4 (2008): 232–235. PMC. Web. 26 Mar. 2016.
- [2] Disselhorst Jonathan A. and al. "Principles of PET/MR Imaging", *J Nucl Med* 2014 jnmed.113.129098 published ahead of print May 12, 2014
- [3] Olcott, Peter D. and al. "Novel Electro-Optically Coupled MR-Compatible PET Detectors", *Nuclear Science Symposium Conference Record, 2008. NSS '08. IEEE*
- [4] Haas H. and al. "What is LiFi?", in *Journal of Lightwave Technology*, vol. 34, no. 6, pp. 1533-1544, March 15, 15 2016.
- [5] Ali, W. and al. "High Speed Optical Wireless Data Transmission System for Particle Sensors in High Energy Physics", in *JINST_047P_0315 v3*
- [6] Goertzen, A. L. and al. (2013). "Design and Performance of a Resistor Multiplexing Readout Circuit for a SiPM Detector", *60(3)*, 1541–1549
- [7] Q. Hwei "Intrinsic Radiation in Lutetium Based PET Detector: Advantages and disadvantages", *Chinese Physics C*

Estudio de la espectroscopía de ruptura inducida por láser aplicada a tejidos biológicos craneales

F. Fanjul-Vélez, M. A. Rodríguez-Colmenares, L. Arévalo-Díaz, J. L. Arce-Diego

Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Av de los Castros s/n, 39005 Santander, España

fanjulf@unican.es, arcedj@unican.es

Resumen

Las técnicas ópticas de tratamiento, diagnóstico y cirugía constituyen una aproximación del máximo interés en la práctica médica. En particular, la aplicación de fuentes ópticas a la cirugía de tejidos aporta precisión en el corte sin daño a tejidos adyacentes. El diagnóstico mediante espectroscopía de ruptura inducida por láser (LIBS) permite llevar a cabo una caracterización del tejido bajo tratamiento. De esta forma es posible asegurar el procedimiento quirúrgico. En este trabajo se describe el proceso de ablación láser, así como el diagnóstico mediante LIBS, para aplicarlo a intervenciones craneales. Mediante espectros LIBS de tejidos craneales de interés, se desarrolla un algoritmo basado en análisis de componentes principales, y se estima su capacidad de caracterización para servir de ayuda a la cirugía.

1. Introducción

En biomedicina se utiliza una gran variedad de fenómenos relacionados con el electromagnetismo para detectar y tratar la enfermedad, promoviendo el desarrollo de técnicas que mejoran la calidad de vida de los pacientes [1].

La técnica de espectroscopía de ruptura inducida por láser (Laser-Induced Breakdown Spectroscopy, LIBS) utiliza la luz para interactuar con los tejidos y producir la ablación [2]. En el presente trabajo se estudiarán los efectos que se producen a partir de este proceso y se le dará una aplicación en el campo de la medicina. La motivación de este trabajo viene dada por la gran demanda de técnicas que mejoran la forma de hacer cirugía de hoy en día. En el campo de la biomedicina se buscan técnicas mínimamente invasivas que apenas tengan efectos adversos en el paciente. Las técnicas utilizadas en la actualidad requieren una invasión excesiva en el paciente, dando lugar a posibles efectos adversos que conllevan efectos secundarios graves. Con la técnica de espectroscopía de ruptura inducida por láser, una técnica in-situ, se consigue una mejora en la calidad de vida del paciente. Además de, por supuesto, evitar los riesgos innecesarios que se producen con técnicas más invasivas.

Uno de los elementos fundamentales de la aplicación de LIBS en intervenciones sobre tejidos biológicos es la ablación óptica de tejidos biológicos [3]. Es precisamente este efecto el que permite la cirugía basada en fuentes ópticas, así como la propia generación del plasma que da lugar a la espectroscopía. En la sección 2 de este trabajo se analiza en detalle el proceso. Este último sistema consiste en un elemento de esparcimiento, un detector óptico, la electrónica de detección y un ordenador. La fundamentación de la técnica LIBS se describe en la

sección 3. La sección 4 trata del objetivo del trabajo, relacionado con las intervenciones craneales. Allí se describen los tipos de tejidos biológicos relevantes, así como el procedimiento de análisis para realizar la distinción. En la sección 5 se aplica el procedimiento de análisis a los espectros de los tejidos identificados, y se estima la capacidad de detección de la técnica. Por último la sección 6 contiene las conclusiones del trabajo.

2. Ablación ópticamente inducida

La ablación láser viene dada por una variedad de mecanismos no lineales [4]. La ablación láser se divide en tres procesos principales a tener en cuenta: ruptura de enlaces y la ignición de plasma, expansión y enfriamiento del plasma y expulsión de partículas y condensación. La duración de estos procesos, que comienza con la absorción electrónica de energía óptica láser, va desde 10^{-15} hasta 10^{-3} segundos, una vez que el pulso láser ha finalizado. Durante el proceso de ignición de plasma, las propiedades que vaya a adquirir el plasma dependen en gran medida de la irradiancia láser y la duración del pulso [5].

Para materiales dieléctricos con una banda prohibida ancha se tiene una determinada absorción relacionada con la energía de dicha banda prohibida. Además, se producirá un segundo efecto, ionización túnel. Este efecto sucede con un campo eléctrico muy intenso y provoca que los electrones pasen a través de la barrera de potencial y escapen del átomo. La barrera por la cual los electrones escapan se crea debido a un campo eléctrico fuerte, la superposición del campo Coulomb y el campo eléctrico resultante del pulso láser. El paso por dicha barrera puede caracterizarse mediante:

$$\gamma = \frac{\omega \sqrt{2m_e E_g}}{eE_A} \quad (1)$$

Donde m_e y e son la masa efectiva y la carga del electrón y E_A es la amplitud del campo eléctrico oscilante láser para una frecuencia ω . Si γ es mucho mayor que 1 diremos que la ionización multifotónica domina el proceso de excitación. Para materiales semiconductores, donde la energía de fotón es mayor que la banda prohibida, el proceso dominante será la absorción de fotones para excitar electrones de la banda de valencia a la banda de conducción. La siguiente ecuación nos sirve para describir la inyección de electrones a la banda de conducción, bajo la combinación de la excitación multifotón y la ionización de avalancha:

$$\frac{dN}{dt} = aIN + \sigma NI^n \quad (2)$$

donde a será una constante.

A continuación se describen las particularidades del proceso de ablación en función de la duración del pulso [6].

2.1. Ablación por láser de nanosegundo

En el caso de tener un láser con una duración de nanosegundos, y una irradiancia láser del orden de 10^7 - 10^{11} W/cm², tendremos unos mecanismos implicados en ablación: punto de fusión, fusión, sublimación, vaporización, ionización, etc. Si tenemos una irradiancia láser lo suficientemente alta, la ablación no térmica también es importante y puede coexistir con los mecanismos térmicos. En caso de tener una irradiación con láser menor a 10^8 W/cm², los procesos térmicos serán los dominantes. Durante el pulso láser la temperatura en la superficie de la muestra se elevará, y finalmente, se fundirá y vaporizará. La tasa de vaporización térmica viene dada en función de la temperatura superficial suponiendo equilibrio térmico:

$$J_v = 1.06 \times 10^6 \exp\left(-\frac{L_v}{k_B}\left(\frac{1}{T_s} - \frac{1}{T_B}\right)\right) \sqrt{\frac{M}{2\pi k_B T_s}} \quad (3)$$

donde L_v es el calor de vaporización y M es la masa de vapor. k_B es la constante de Boltzmann y T_B y T_s la temperatura y el punto de ebullición de la muestra. La masa vaporizada puede ser ionizada mediante la absorción del haz láser entrante formando a su vez plasma. La radiación láser es absorbida principalmente por la inversa de la ecuación de Bremsstrahlung. Esto implica la absorción de un fotón por electrones libres durante la colisión con partículas pesadas (iones y átomos).

2.2. Ablación por láser de picosegundo

En procesos con láseres de esta duración, la estructura puede ser fundida a través de procesos tanto térmicos como no térmicos, dependiendo de la irradiancia láser. Los electrones son expulsados de la superficie durante el pulso láser. Los electrones libres pueden interactuar con el aire y absorber energía láser iniciando un plasma de aire durante la duración del pulso láser. La densidad de electrones se mide con el patrón de interferencia, utilizando la expresión siguiente:

$$N_e(z) = \frac{2\varepsilon_0 m_e \omega^2 \lambda q(z)}{e^{2l(z)}} \quad (4)$$

donde $q(z)$ y $l(z)$ son el desplazamiento de fase medio y la anchura del plasma en la posición z . ω y λ son las frecuencia circular y longitud de onda del haz. La densidad de electrones en este plasma de aire está en torno a 10^{20} cm⁻³, un dato mayor a la densidad del aire. Este plasma se observa inmediatamente y se expande longitudinalmente durante la duración del pulso láser. La principal diferencia con el láser de nanosegundo es que el blindaje plasma en este caso está causado no por la absorción de plasma, sino por el aire.

2.3. Ablación por láser de femtosegundo

En este caso, durante el pulso se puede despreciar la conducción térmica en la muestra. Y obtenemos unas

ventajas claras sobre los otros tipos de pulsos, como son un rápido proceso de ablación, muy preciso y más reproducible. Para ablación con láser de nanosegundos y femtosegundos, la profundidad del corte aumenta linealmente con el número de pulsos. Sin embargo, en el caso del láser de femtosegundos, el corte es casi dos veces más profundo utilizando la misma afluencia de pulsos. En cuanto a lo referente a la técnica LIBS, se han encontrado diferencias significativas en la evolución de las líneas de emisión para diferentes duraciones de pulso. Por otro lado, la temperatura del plasma aumenta con la duración del pulso láser, sin embargo, la densidad de electrones se mantiene relativamente constante.

En comparación con el láser de nanosegundos, el plasma se descompone más rápido cuando se induce por láser de femtosegundos. Esto se debe a que, con el láser de nanosegundos, el plasma absorbe parte de la energía y este se vuelve a calentar, alargando su tiempo de vida.

3. Fundamentos de LIBS

La principal diferencia entre las diferentes configuraciones de LIBS es la forma óptica de recogida de la radiación que emite la nube de plasma [2]. Los principales problemas que nos vamos a encontrar para configurar nuestro LIBS, serán la alineación y la sensibilidad, pudiendo llevarnos a la pérdida de información espectral del plasma generado. El montaje experimental LIBS creado para el estudio de muestras sólidas consiste en un conmutador de doble frecuencia con láser Nd: YAG que nos proporciona una energía aproximada de 300 mJ a una longitud de onda de 532 nm con un pulso de 5 ns de duración. A una frecuencia de 10 Hz, enfocado con un espejo dicróico y utilizando una lente de cuarzo para recoger la emisión óptica del plasma inducido por el láser. Dos lentes de cuarzo de 100 mm y 50 mm se utilizan para acoplar la emisión de plasma de un mazo de fibra, compuesto por 80 fibras individuales de 0.01 mm de diámetro del núcleo. Este se acopla el espectrómetro utilizado como ranura de entrada. El detector de carga acoplada (ICCD) se adjunta al plano focal de salida del espectrómetro, resultando útil para detectar la luz esparcida del plasma inducido por láser. Este detector se sincroniza con la salida del pulso láser. Se acumulan alrededor de 100 pulsos para obtener un espectro, de los cuales 30 se registran para la condición experimental.

Se busca producir suficiente energía, además de estable, para generar plasma. Para esto se utilizan varios láseres con longitudes de onda desde el infrarrojo al visible. Como ejemplo, tenemos el láser de estado sólido Nd: YAG (1064 nm, 532 nm con una duración de pulso de 5-10 ns). Este tipo de láser es el más utilizado en esta técnica. Las energías típicas oscilan entre las decenas y cientos de mJ con potencias de pico de MW, suficientes para generar plasma. Los detectores, que en los inicios eran fotográficos, se han remplazado por tubos fotomultiplicadores (PMT), matriz de fotodiodos (PDA), o los dispositivos de carga acoplada (CCD), que nos proporcionan medidas más rápidas y precisas. Se ha comprobado que los CCD son alrededor de tres órdenes de magnitud más sensibles que los PDA, sin embargo, su rango espectral es limitado, ya que se detecta mediante

electrodos transparentes que operan generalmente sólo en el rango visible.

El espectrómetro Echelle ofrece una gran potencia de resolución espectral ($\lambda/\Delta\lambda \geq 10.000$) en combinación con una cobertura espectral de varios cientos de nanómetros. Si combinamos el espectrómetro con dispositivos de carga acoplada intensificados, conseguimos una herramienta muy potente para analizar el plasma, mejorando sustancialmente en los límites de detección. Este tipo de espectrómetros se han convertido en una gran revolución en el estudio de los datos espectrales, ya que con este método facilitamos la obtención de resultados, obteniendo además una mayor precisión, determinando los límites de detección y las temperaturas del plasma, además de la densidad de electrones. Por otro lado, gracias a su alta resolución tenemos una mayor facilidad para detectar elementos de una baja concentración. La principal ventaja del sistema Echelle es su alta resolución, que es realmente útil para evitar la interferencia espectral. La segunda ventaja es su cobertura espectral; el amplio rango que cubre este sistema (200 – 780 nm) hace posible que se midan un gran rango de concentraciones. Esta amplia gama es adecuada para el análisis multi-elemental, con ello reconocemos elementos presentes en una muestra desconocida, siempre que la muestra se encuentre en la pluma de plasma producida por el láser. La principal dificultad frente a esta técnica es la variación de intensidades de las líneas espectrales, que dependen de la interacción láser-tejido. Se ha estudiado como posibilidad de resolución para este problema normalizar las señales utilizando la variación de temperatura de excitación del plasma, realizable con el sistema Echelle y no con un espectrómetro convencional.

4. Aplicación a tejido cerebral

El método de análisis de componentes principales (PCA) se utiliza para extraer información relevante en un conjunto de datos [7]. Utilizando este método obtenemos una reducción de datos complejos, simplificando la estructura que se ha recogido de los espectros. Lo que buscamos con el análisis de componentes principales es calcular una base significativa para expresar, en nuestro caso, el espectro y poder compararlo con muestras e interpretar los resultados. Utilizar esta función permite distinguir qué datos son importantes, cuáles son redundantes y cuáles no nos interesan. Para aplicar la función PCA en Matlab® debemos conseguir una matriz que englobe todas las muestras. El análisis de componentes principales nos ofrece varios resultados. Por un lado, los coeficientes de las componentes principales. Por otro lado, obtenemos una matriz de resultados. Esta matriz es la necesaria en la aplicación del trabajo. Por último, podemos obtener las varianzas de las componentes.

Para la aplicación al tejido cerebral precisaremos de los espectros del plasma inducido por diferentes tipos de tejidos biológicos [8]. Por un lado, se emplean espectros de tejido nervioso, tejido muscular y tejido adiposo. Estos tejidos constituyen componentes básicos del tejido craneal. De la misma forma, el tejido óseo o el tejido epitelial se utilizarán en la aplicación principal de este trabajo.

Algunos de estos espectros LIBS promedio aparecen en la Figura 1.

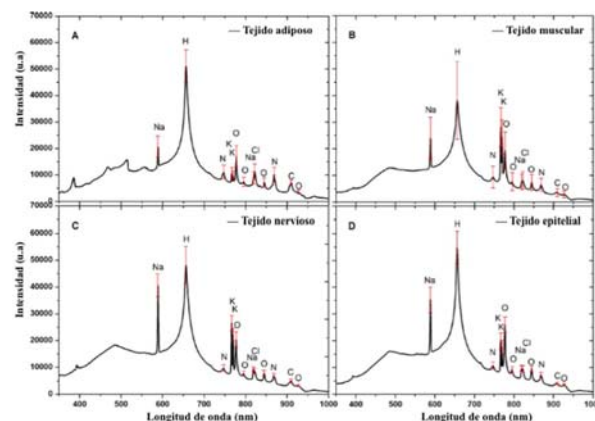


Figura 1. Espectros de tejido a) adiposo, b) muscular, c) nervioso y d) epitelial [8].

Por otro lado, y en aras de comprobar la capacidad diagnóstica de un sistema LIBS, se compararán los resultados de espectros de muestras de riñón, diente y encéfalo.

Los espectros obtenidos deben ser filtrados para pasar a formar parte del sistema de clasificación. Para ello, se seleccionan las longitudes de onda más significativas, con un total de 106 puntos, entre 350 y 950 nm. Posteriormente se aplicará el algoritmo PCA a la matriz resultante y se obtendrá el análisis de componentes principales.

5. Resultados y discusión

El primer paso consistirá en la representación de las dos primeras componentes de cada observación, para los diferentes tejidos craneales, así como para los tejidos de comparación. Estos resultados aparecen en la Figura 2.

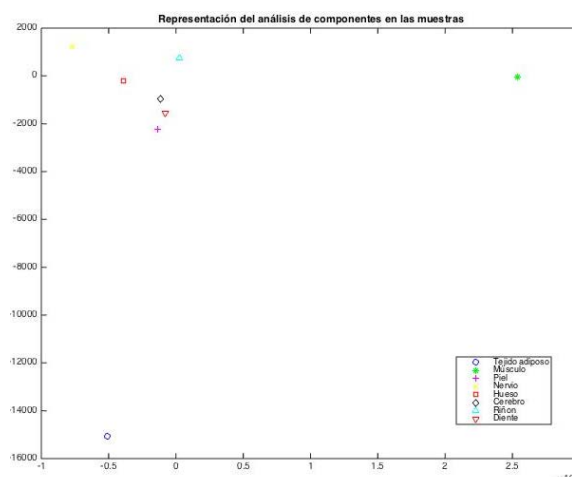


Figura 2. Representación de las dos componentes principales de cada una de las muestras de tejido.

En la Figura 2 se puede observar cómo la mayoría de los tejidos no básicos se aproximan al tejido nervioso. Esto puede ser debido a la amplia extensión de este sistema nervioso. Asimismo, se observa en la Figura 2 que una muestra de diente tiene mayor similitud con el hueso. Para comprobarlo de forma analítica se calculan las distancias a los principales tejidos: nervio, músculo, hueso y tejido

adiposo, utilizando la norma euclídea, aplicada sobre las cinco primeras componentes. Los resultados obtenidos son los esperados, reflejados en la Figura 3. La distancia más corta con una muestra de diente es el tejido óseo. También se puede observar que a una distancia no mucho mayor se encuentra el tejido nervioso. Esto puede ser debido a la cantidad de nervios que hay en el diente, y de alguna forma se ven reflejados en el espectro de una muestra de dentadura.

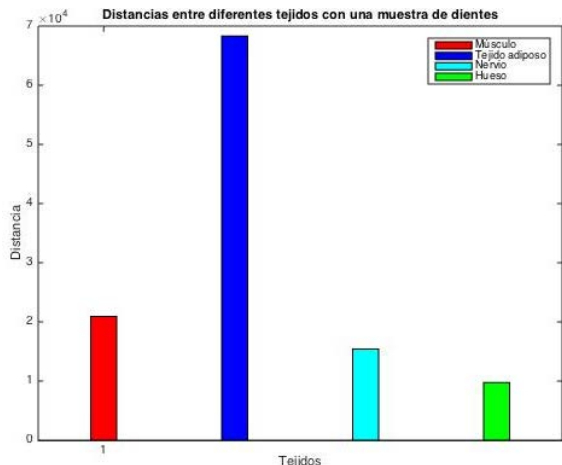


Figura 3. Distancia entre tejido de diente y los diferentes tejidos básicos.

Lo que interesa en una cirugía craneal es cómo podemos distinguir entre los tres tejidos más relevantes: piel, hueso craneal y cerebro. Es una zona en la que el tejido principal es el óseo. Por un lado, para diferenciar de la piel, y por otro lado, y más importante, para diferenciar del tejido cerebral. Se puede comprobar en la Figura 4 que la distancia con la piel es mayor. Esto puede ser debido a que las diferentes capas que componen la piel aumentan la distancia con el hueso. En cualquier caso, se observa una distancia suficiente como para permitir, en su caso, una distinción entre los tres tipos de tejido.

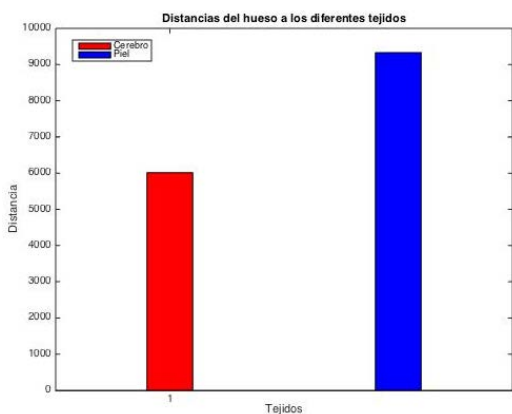


Figura 4. Representación gráfica de las distancias de los tejidos cerebral y epitelial con respecto al hueso.

6. Conclusiones

Las aplicaciones de LIBS para el análisis de muestras biológicas y médicas se han desarrollado en los últimos años. El estudio sobre tejido blando o duro e incluso sangre u orina demuestra que la técnica LIBS tiene gran potencial

para aplicaciones en ciencias de la vida. En este trabajo se ha desarrollado un sistema, basado en Matlab®, para analizar diferentes tejidos y comprobar la utilidad de la técnica. Se ha comprobado su utilidad para distinguir tejido, así como para saber en qué momento cambia y poder detener la cirugía o el correspondiente tratamiento.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto del Plan Nacional de I+D+i del Ministerio de Economía y Competitividad de España “Nuevas fases activas en nano-óxidos de metales de transición y tierras raras estabilizadas a alta presión” (MAT2015-69508-P), cofinanciado con fondos FEDER, y por la Fundación San Cándido.

Referencias

- [1] Vo-Dinh T. Biomedical Photonics Handbook. Boca Raton CRC Press, 2003.
- [2] Cremers DA, Radziemski LJ. Handbook of Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. John Wiley & Sons Inc., 2006.
- [3] Niemz MH. Laser-Tissue Interactions: Fundamentals and Applications. Springer, 2004.
- [4] Vogel A, Venugopalan V. Mechanisms of Pulsed Laser Ablation of Biological Tissues. *Chem. Rev.*, vol 103, 2003, pp 577-644.
- [5] Fanjul-Vélez F, Salas-García I, Arce-Diego JL. Analysis of laser surgery in non-melanoma skin cancer for optimal tissue removal. *Laser Physics*, vol 25, 2015, pp 025606-14.
- [6] Loesel FH, Niemz MH, Bille JF, Juhasz T. Laser-Induced Optical Breakdown on Hard and Soft Tissues and Its Dependence on the Pulse Duration: Experiment and Model. *IEEE Journal of Quantum Electronics*, vol 32, 1996, pp 1717-1722.
- [7] J. Shlens, “A tutorial on Principal Component Analysis”, 2005, https://www.cs.princeton.edu/picasso/mats/PCA-Tutorial-Intuition_jp.pdf
- [8] Kanawade R, Mahari F, Klämpfl F, Rohde M, Knipfer C, Tangerman-Gerk K, Adler W, Schmidt M, Stelzle F. Qualitative tissue differentiation by analysing the intensity ratios of atomic emission lines using laser induced breakdown spectroscopy (LIBS): prospects for a feedback mechanism for surgical laser system. *Journal of Biophotonics*, vol 8, 2015, pp 153-161.

Caracterización sub-micrométrica de superficies en biomateriales mediante holografía digital

L. A. Arévalo-Díaz, F. Fanjul-Vélez, J. L. Arce-Diego

Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Av de los Castros s/n, 39005 Santander, España

arcedi@unican.es

Resumen

El nivel de rugosidad de los biomateriales juega un papel importante en el grado de adhesión de las células al material. Métodos actuales de fabricación de biomateriales son capaces de controlar el grado de aspereza con el fin de asegurar una mejor bio-compatibilidad. En este trabajo se analiza la viabilidad de la técnica de holografía digital para hacer una medida sub-micrométrica de superficies. La holografía es una técnica óptica de alta resolución que permite recuperar la onda objeto completa. Si el objeto se ha desplazado una cantidad muy pequeña y se comparan dos hologramas capturados antes y después del cambio, se tiene lo que se conoce como mapas de diferencia de fase. En general estos mapas se utilizan para medir los cambios que haya sufrido el objeto. Sin embargo en este trabajo se ha encontrado además que, la visibilidad de los mapas depende de la rugosidad de la superficie, con lo que se tendría un método para medir esta característica. La técnica permite medir rugosidades menores que $\lambda/4$ de objetos tridimensionales de tamaños milimétricos.

1. Introducción

Los biomateriales se utilizan frecuentemente en implantes dentales, dispositivos ortopédicos, marcapasos o catéteres. Como material más usado está el titanio y sus aleaciones debido a sus propiedades anti-corrosivas y a su alto grado de dureza [1]. Una de las principales preocupaciones de su uso es la bio-compatibilidad. La adhesión de las células al material depende en parte de la topografía de la superficie. Se ha visto que diferentes tipos de células se adhieren mejor a distintos grados de rugosidad [2,3]. En los últimos años se han desarrollado técnicas especiales de fabricación de biomateriales que permiten controlar el grado de rugosidad de la superficie [4]. De ahí la importancia de poder realizar una medida precisa de la topografía del material a nivel sub-micrométrico.

La microestructura de los materiales se puede observar a partir de imágenes de súper-resolución obtenidas con microscopios electrónicos de barrido (SEM) o microscopios de fuerza atómica (AFM), sin embargo estos equipos suelen ser costosos y/o de difícil acceso. Las técnicas ópticas permiten realizar diferentes tipos de medidas como deformaciones de objetos o velocidades de fluidos [5]. Son medidas no invasivas de alta precisión y sensibilidad. Su implementación ha empezado a tomar auge en el análisis de sistemas biomédicos dadas sus múltiples ventajas [6]. En la literatura se pueden encontrar medidas de rugosidad con técnicas ópticas como métodos de *scattering* [7], métodos interferométricos [8,9], o

métodos de *speckle* [10,11], donde se tiene en cuenta únicamente la intensidad capturada del frente de onda del objeto bajo estudio.

En este trabajo se utiliza la holografía digital como técnica alternativa para medir la rugosidad de una superficie. La holografía digital es capaz de medir variaciones del camino óptico de hasta una centésima de la longitud de onda [12]. La técnica recupera no solo la amplitud de la onda objeto sino también su fase a partir de un único registro. Esta última variable almacenará información acerca de las variaciones de altura sub-micrométricas de la superficie.

Algunas medidas de rugosidad realizadas con la holografía digital ya han sido reportadas previamente. En [13] utilizan un objetivo de microscopio para observar el objeto. Este elemento óptico introduce una fase cuadrática difícil de eliminar y produce errores en la medida. Como forma de evaluar la rugosidad de la superficie de un cuerpo opaco o reflector, se medirá la visibilidad de las franjas del mapa de diferencia de fase resultante cuando el objeto ha sufrido un desplazamiento. Al ser un desplazamiento controlado y al utilizar mapas de diferencia de fase, la medida es independiente de la forma del objeto, pudiéndose analizar muestras con cualquier geometría.

En la siguiente sección se presentan los fundamentos teóricos de la holografía digital, donde se describe el proceso de registro de un holograma y la reconstrucción de la onda objeto. Después se muestran algunos hologramas junto con sus reconstrucciones, para objetos con diferente grado de rugosidad. Seguidamente se analizan los mapas de fase resultantes con el objetivo de evaluar la viabilidad de la técnica para caracterizar superficies a nivel sub-micrométrico. Y finalmente se presentan las conclusiones.

2. Fundamentos teóricos de la holografía digital

En la holografía digital se ilumina un objeto tridimensional con la luz de un láser y, el campo de luz que difracta o difunde el objeto (onda objeto) interfiere con un haz coherente (onda de referencia) en un sensor digital (CCD) colocado a una distancia d del objeto, como se muestra en la Figura 1.

La forma de ambas ondas en el sensor estará dada por:

$$o(x, y) = A_o(x, y) \exp[j\varphi_o] \quad (1)$$

$$r(x, y) = A_r(x, y) \exp[j\varphi_r] \quad (2)$$

donde A y φ corresponden a la amplitud y la fase de la onda respectivamente.

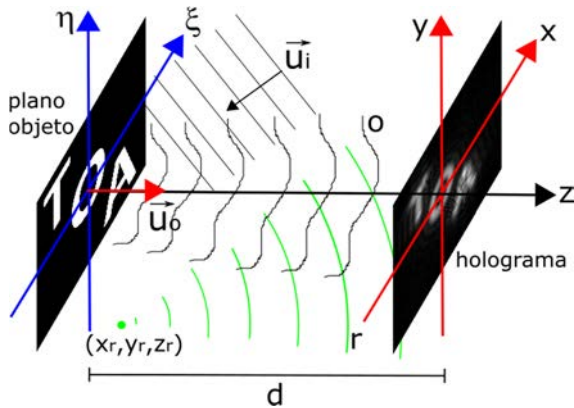


Figura 1. Proceso de registro de un holograma digital.

El patrón de interferencia u holograma almacenado preserva ambas magnitudes (A y φ), tal como se muestra en la siguiente expresión:

$$I(x, y) = A_o^2 + A_r^2 + 2A_o A_r \cos(\varphi_o - \varphi_r). \quad (3)$$

Mediante un proceso numérico de reconstrucción es posible recuperar la información de amplitud y la información de la fase de la onda objeto [12].

En la región de Fresnel ($\xi, \eta \ll d$), la reconstrucción de la amplitud compleja de la onda objeto se realiza mediante la propagación del holograma $I(x, y)$ multiplicado por una onda de reconstrucción $c(x, y)$. El campo óptico se propaga una distancia z mediante la transformada de Fresnel:

$$\Gamma(v, \mu) = \frac{\exp(jkz)}{j\lambda z} \exp[j\pi\lambda z(v^2 + \mu^2)] \times \mathfrak{F}^{-1} \left\{ I(x, y) c(x, y) \exp \left[\frac{jk}{2z} (x^2 + y^2) \right] \right\}, \quad (4)$$

aquí λ es la longitud de onda del láser, $k = \frac{2\pi}{\lambda}$ es el número de onda, \mathfrak{F} hace referencia a la transformada de Fourier y la imagen resultante aparece re-escalada mediante la siguiente relación: $v = \frac{\xi}{\lambda d}$ y $\mu = \frac{\eta}{\lambda d}$. La intensidad y la fase de la onda objeto se calculan mediante las siguientes expresiones:

$$I(\xi, \eta) = |\Gamma(\xi, \eta)|^2 \quad (5)$$

$$\varphi(\xi, \eta) = \arctan \frac{\text{Im}[\Gamma(\xi, \eta)]}{\text{Re}[\Gamma(\xi, \eta)]}. \quad (6)$$

Cuando dos hologramas se capturan en dos instantes de tiempo diferentes, y si el objeto ha sufrido algún cambio, como un desplazamiento \vec{L} , la diferencia de las fases recuperadas, llamado mapa de diferencia de fase, está relacionado con el desplazamiento de la siguiente forma [14]:

$$\Delta\phi = \frac{2\pi}{\lambda} (\vec{u}_o - \vec{u}_i) \cdot \vec{L} \quad (7)$$

donde \vec{u}_o y \vec{u}_i corresponden a los vectores de observación y de iluminación del sistema óptico de registro (Figura 1). Cuando estos vectores son paralelos al eje z pero con sentido contrario, se tendrá que en el mapa de fase cada franja corresponderá a un desplazamiento del objeto en el eje óptico (L_z) de $\lambda/2$.

La definición clásica de visibilidad en el contexto de la interferometría es la siguiente:

$$\mathcal{V} = \frac{I_{\max} - I_{\min}}{I_{\max} + I_{\min}} \quad (8)$$

donde I_{\max} , I_{\min} son los valores máximos y mínimos del mapa. A partir de esta medida se inferirá la rugosidad del material.

3. Resultados y Discusión

Para modelar el proceso, se muestra discretamente el plano objeto (ξ, η) (ver Figura 1) con una matriz de $N \times N$ y un paso de ancho Δ . Se utilizaron los siguientes parámetros: $\lambda = 630\text{nm}$, $d = 1\text{m}$, $N = 500$, $\Delta = 0.03\text{mm}$, con lo que observa una región de $15 \times 15\text{mm}^2$ en el plano objeto. La máxima frecuencia espacial tiene que adaptarse a la resolución del sensor CCD, para ello se ajusta la distancia entre el objeto y el sensor d , teniendo en cuenta el tamaño del objeto [12].

El objeto se ilumina con una onda plana de amplitud compleja $U_o(x, y, z)$. La onda que difunde el objeto se puede modelar de la siguiente forma:

$$o_o(\xi, \eta) = A_o e^{ik\Gamma(\xi, \eta)}, \quad (9)$$

donde $k\Gamma(\xi, \eta)$ es una función de fase aleatoria relacionada con la rugosidad de la superficie y $A_o = U_o(x, y, z)R(x, y)$. Si se supone que la onda de iluminación incide perpendicularmente y el objeto tiene un coeficiente de reflexión en su superficie ($R(x, y)$) de valor constante, se puede suponer por simplicidad que la amplitud es un valor constante ($A_o = 1$).

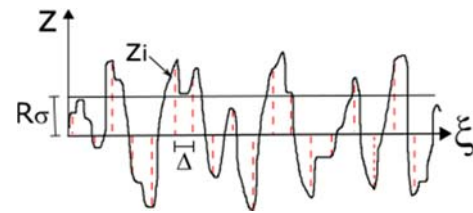


Figura 2. Descripción de la rugosidad de una superficie.

La función aleatoria sigue una distribución normal con una desviación típica (R_σ) del orden de una fracción (n) de la longitud de onda:

$$R_\sigma = n\lambda, \quad (10)$$

esta desviación se puede considerar como una medida de la rugosidad de la superficie (Figura 2).

En la Figura 3a se muestra un objeto en el plano (ξ, η), mientras que la Figura 3b muestra la onda objeto en el plano (x, y). Este campo óptico se encuentra propagando una distancia d , la onda $o_o(\xi, \eta)$ que emana una superficie poco rugosa ($n = 0.01$).

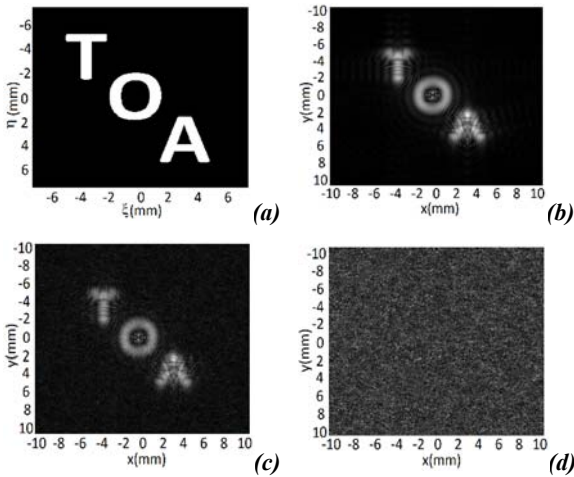


Figura 3. (a) Onda objeto en el plano (ξ, η) . (b) Onda objeto en el plano (x, y) con $n = 0.01$, (c) $n = 0.1$ y (d) $n = 0.5$.

Las imágenes de la Figura 3c-d corresponden a objetos con rugosidades mayores. Se tiene que para objetos poco rugosos, en la pantalla se observa claramente la figura de difracción del objeto, mientras que a medida que aumenta la rugosidad comienza a aparecer un patrón de *speckle* [15]. Técnicas como el *contraste de speckle* sirven para medir la rugosidad en patrones como el de la Figura 3d, sin embargo fallan con objetos con rugosidades pequeñas como el de la Figura 3b.

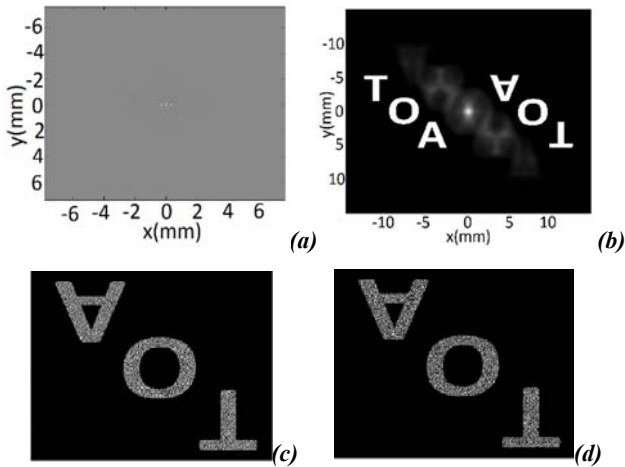


Figura 4. (a) Holograma digital de Fourier sin lente. (b) Reconstrucción de la imagen real y virtual con $n = 0.01$. (c) Imagen reconstruida con $n = 0.1$. (d) Imagen reconstruida con $n = 0.5$.

La onda de referencia es una onda divergente cuyo origen tiene coordenadas $(x_r, y_r, z_r) = (4mm, 0, d)$. Esta configuración corresponde al registro de un holograma de Fourier sin lente.

3.1. Reconstrucción numérica de un holograma digital

La Figura 4a muestra un holograma de este tipo y la Figura 4b muestra su espectro de Fourier, donde se observa tanto la imagen virtual como la imagen real y el orden cero en un mismo plano y completamente separados, tal y como se

espera en este tipo de holografía. Las Figuras 4c y 4d muestran las reconstrucciones de dos objetos con distinta rugosidad: $n = 0.1$ y $n = 0.5$, se ha seleccionado únicamente una de las imágenes reconstruidas. Esta información de intensidad no permite hacer discriminación entre las rugosidades, por eso se trabaja únicamente con la información de fase.

3.2. Análisis de los mapas de diferencia de fase

Para encontrar mapas de diferencia de fase se gira el objeto alrededor del eje ξ un ángulo de 0.01° . El resultado serán mapas de fase como los que se muestran en la Figura 5. Dada la configuración del sistema, cada franja corresponde a un desplazamiento de $\frac{\lambda}{2} = 315nm$. La Figura 5 muestra dos mapas junto con un perfil vertical (línea roja en el mapa) correspondientes a dos objetos con rugosidades distintas. Uno de ellos más rugoso ($n = 0.5$) que el otro ($n = 0.01$). En los mapas resultantes se observa que el contraste de las franjas es diferente. Además se tiene que la cantidad de ruido presente en la imagen también varía.

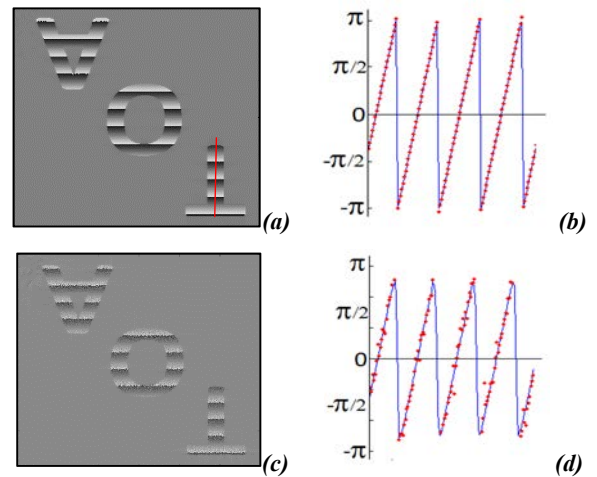


Figura 5. Mapas de diferencia de fase y perfil vertical central para (a-b) $n = 0.01$ y (c-d) $n = 0.5$.

Para medir la visibilidad \mathcal{V} primero se filtran los mapas para eliminar el ruido. Sobre estas imágenes se calcula \mathcal{V} usando la ecuación (4). El resultado de esta medida para diferentes rugosidades se observa en la Figura 6. Se analizaron objetos cuya rugosidad variaba, variando a n ente 0 y 0.5 cada 0.01.

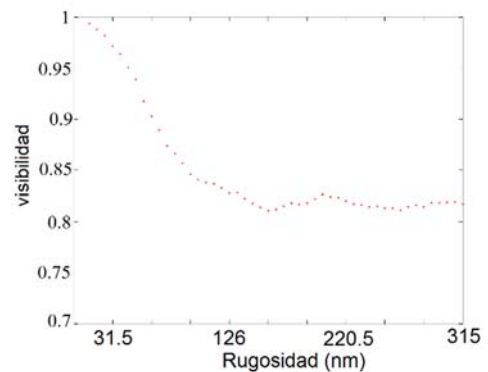


Figura 6. Visibilidad de las franjas del mapa de diferencia de fase con respecto a una medida de rugosidad (n).

Es claro que la visibilidad decrece a medida que aumenta la rugosidad de la superficie hasta alcanzar un límite entorno a $V = 0.82$, este valor se alcanza cuando $n = 0.3$. Para rugosidades mayores la visibilidad de las franjas permanece constante.

También es de interés medir el ruido presente en los mapas. Para ello se encuentra la desviación típica de los datos con respecto a un mapa de fase filtrado (sin ruido). El resultado se muestra en la Figura 7, nuevamente se observa una tendencia clara, la cantidad de ruido aumenta cuando aumenta la rugosidad hasta que se alcanza un valor constante.

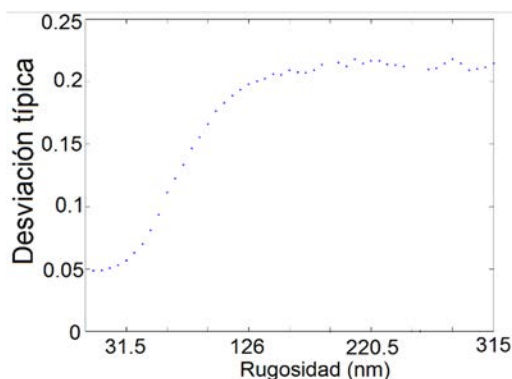


Figura 7. Desviación típica de los valores del mapa de diferencia de fase con respecto a n .

Estos resultados muestran que con el análisis propuesto es posible diferenciar grados de rugosidad a partir de los mapas de diferencia de fase. Con esta propuesta, además de tener una medida acerca de los cambios que haya sufrido el objeto, también se podrá medir su grado de rugosidad.

4. Conclusiones

En este trabajo se ha evaluado numéricamente la capacidad de la holografía digital para medir las variaciones sub-micrométricas de un biomaterial. Como propuesta novedosa se mide la calidad de los mapas de fase resultantes cuando el objeto se somete a un giro de 0.01° . Se observó que la curva de visibilidad de las franjas con respecto a la rugosidad mantiene una tendencia a decrecer a medida que la rugosidad aumenta hasta llegar a un valor límite. Situación similar que ocurre con el ruido presente en la imagen, el cual aumenta cuando aumenta la rugosidad. Estos resultados muestran que es posible caracterizar la rugosidad de materiales por medio de una técnica óptica que requiere pocos elementos ópticos y que es altamente sensible. Como trabajo futuro se espera continuar con las medidas experimentales correspondientes con el fin de validar los resultados.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto del Plan Nacional de I+D+i del Ministerio de Economía y Competitividad de España "Nuevas fases activas en nano-óxidos de metales de transición y tierras raras estabilizadas a alta presión" (MAT2015-69508-P), cofinanciado con fondos FEDER, y por la Fundación San Cándido.

Referencias

- [1] Brunette, D. M., Tengvall, P., Textor, M., & Thomsen, P. (Eds.). (2012). Titanium in medicine: material science, surface science, engineering, biological responses and medical applications. Springer Science & Business Media.
- [2] Jouanny, I., Labdi, S., Aubert, P., Buscema, C., Maciejak, O., Berger, M. H. & Jeandin, M. (2010). Structural and mechanical properties of titanium oxide thin films for biomedical application. *Thin Solid Films*, 518(12), 3212-3217.
- [3] Hu, X., Park, S. H., Gil, E. S., Xia, X. X., Weiss, A. S., & Kaplan, D. L. (2011). The influence of elasticity and surface roughness on myogenic and osteogenic-differentiation of cells on silk-elastin biomaterials. *Biomaterials*, 32(34), 8979-8989.
- [4] Ozdemir, Z., Ozdemir, A., & Basim, G. B. (2016). Application of chemical mechanical polishing process on titanium based implants. *Materials Science and Engineering: C*.
- [5] Laura Arévalo, Virginia Palero, Julia Lobera, Nieves Andrés, Pilar Arroyo. "Combining endoscopes with PIV and digital holography for the study of vessel model mechanics". *Meas. Sci. & Tech.* 26, 115701 (2015).
- [6] Laura Arévalo, "Desarrollo de técnicas ópticas avanzadas para el análisis de sistemas biomédicos," Tesis de Doctorado (Universidad de Zaragoza, España 2015).
- [7] Tay, C. J., Wang, S. H., Quan, C., & Shang, H. M. (2003). In situ surface roughness measurement using a laser scattering method. *Optics Communications*, 218(1), 1-10.
- [8] Blunt, R. T. (2006, April). White Light Interferometry—a production worthy technique for measuring surface roughness on semiconductor wafers. In *Proceedings of CS MANTECH Conference* (pp. 59-62).
- [9] Lehman, M. M., Pomarico, J. A., & Torroba, R. D. (1995). Digital speckle pattern interferometry applied to a surface roughness study. *Optical Engineering*, 34(4), 1148-1152.
- [10] Leonard, L. C., & Toal, V. (1998). Roughness measurement of metallic surfaces based on the laser speckle contrast method. *Optics and Lasers in Engineering*, 30(5), 433-440.
- [11] Léger, D., Mathieu, E., & Perrin, J. C. (1975). Optical surface roughness determination using speckle correlation technique. *Applied optics*, 14(4), 872-877.
- [12] Schnars U. and Jueptner W., [Digital Holography], Springer Berlin Heidelberg, New York (2005).
- [13] Montfort, F., Emery, Y., Solanas, E., Cuche, E., Aspert, N., Marquet, P. & Depeursing, C. (2006, November). Surface roughness parameters measurements by Digital Holographic Microscopy (DHM). In *Third International Symposium on Precision Mechanical Measurements* (pp. 62800V-62800V). International Society for Optics and Photonics.
- [14] Vest C.M., [Holographic Interferometry], Wiley Series in Pure and Applied Optics, Wiley, New York (1979).
- [15] Rastogi, Pramod K. "Digital speckle pattern interferometry and related techniques." *Digital Speckle Pattern Interferometry and Related Techniques*, by PK Rastogi (Editor), pp. 384. ISBN 0-471-49052-0. Wiley-VCH, December 2000. 1 (2000).

Desarrollo de un Pulsioxímetro de Bajo Coste mediante el uso de recursos educativos abiertos: método de Aprendizaje de Biofotónica en el GIB

Beatriz Merino Barbancho¹, Lilian Gutiérrez², F.J. López-Hernández¹, P. R. Horche¹

¹Departamento de Tecnología Fotónica y Bioingeniería, Universidad Politécnica, Madrid, España
beatriz.merinoba@alumnos.upm.es, phorche@tfo.upm.es

²Universidad Anáhuac, México, México

Resumen

This paper discusses how the use of Open Educational Resources (OER) can become a fundamental tool in university educational innovation. The paper summarizes the experience of undergraduate students of Biomedical Engineering, in the subject of Biophotonics. This experience is a project-based learning methodology which is under the umbrella of the Educational Innovation Group at the Polytechnic University of Madrid called PhotonPedia. The students have developed a device to measure oxygen saturation and pulse rate, which are two critical variables that determine the state of health of a human at a given time. For this reason the devices responsible for quantifying these variables take on a significance value in the health system. However, acquisition of these devices is relatively expensive, therefore the aim of this paper is to show how to make a low-cost pulse oximeter OER-based and able to measure vital signs just like that in current use in health care.

1. Motivación

Este trabajo plantea cómo el uso de Recursos Educativos Abiertos (REA) [1] se puede convertir en una herramienta útil en la innovación educativa universitaria. El trabajo resume la experiencia de un grupo de estudiantes de Biofotónica (4º curso del Grado en Ingeniería Biomédica, GIB) e impartido por profesores del Departamento de Tecnología Fotónica y Bioingeniería de la ETSIT-UPM integrantes del grupo de Innovación Educativa PhotonPedia de la Universidad Politécnica de Madrid.

La Biofotónica engloba la biología, rama de las ciencias naturales que estudia las leyes de la vida, y la fotónica, es decir, la tecnología centrada en el tratamiento de la luz. Al ser la Biofotónica una materia que involucra el conocimiento de muy diferentes entornos (biología, fotónica, interacción de la luz con la materia biológica, ...), parece adecuado plantear su estudio a través de técnicas de Aprendizaje basadas en Proyectos (PBL, Project-based learning) [2], en las que su principal objetivo es la integración de diferentes materias, reforzando la visión de conjunto de ellas y organizando una serie de actividades en torno a un fin común. En las secciones siguientes se resume el proyecto llevado a cabo por un grupo de estudiantes de la asignatura de Biofotónica.

2. Planteamiento del proyecto

El primer paso en la elaboración de un PBL es determinar la meta a conseguir y una característica identificativa del

PBL es que el estudiante es el protagonista de su propio aprendizaje y, por tanto, el proyecto debe estar definido por sus intereses y con el compromiso adquirido por ellos. Por tanto, tras un estudio previo de posibles dispositivos biofotónicos, el grupo discute las diferentes propuestas y es de destacar el interés común por la intención de desarrollar proyectos que supongan una contribución a la mejora, ya sea en prestaciones o bien en coste, de dispositivos comerciales. Finalmente se optó por el desarrollo de un Pulsioxímetro con prestaciones adecuadas para su uso clínico pero con un coste reducido. Los estudiantes argumentaron la necesidad de abordar este proyecto bajo el siguiente planteamiento: “La falta de oxigenación de los tejidos durante un cierto tiempo puede conllevar la muerte, por lo que es una constante que puede ser de gran utilidad para prevenir o diagnosticar un gran número de enfermedades. Es por esto que actualmente todo hospital dispone de una multitud de pulsioxímetros que miden de manera indirecta tanto la saturación de oxígeno de la sangre como el pulso sanguíneo de un paciente. No obstante, la adquisición de dispositivos que tengan unas prestaciones adecuadas para el uso clínico asciende a 100€ aproximadamente. Sin embargo, el objetivo de este trabajo es plantear un pulsioxímetro con características similares a los que se utilizan en la clínica pero con un valor no superior a los 20€ por lo que se desarrollará mediante herramientas open source y REA”

Para conseguir el objetivo marcado, los estudiantes se involucraron activamente, desarrollando diferentes tareas que ellos mismos identificaron como necesarias y auto-assignándose roles específicos dentro del grupo. Las tareas principales identificadas fueron: 1) Planteamiento de las bases fisiológicas involucradas en un pulsioxímetro óptico, 2) Conocimiento teórico sobre los fenómenos ópticos sobre los que se basa el funcionamiento del pulsioxímetro óptico, 3) Descripción y selección de componente ópticos, 4) Diseño del circuito electrónico, 5) Diseño e implementación del soporte mecánico, 6) Tratamiento de los datos adquiridos y 7) Análisis de costes.

En este proceso, la función principal del docente consistió en el asesoramiento técnico y en la determinación de los plazos para la finalización de las distintas tareas. Los resultados obtenidos por los estudiantes, en la ejecución de las tareas antes mencionadas, se resumen en las siguientes secciones.

3. Bases fisiológicas y fenómenos ópticos

La oxihemoglobina [3] o hemoglobina oxigenada (HbO_2) es la hemoglobina cuando está unida al oxígeno, dando el aspecto rojo intenso característico de la sangre arterial. Cuando pierde el oxígeno, se denomina hemoglobina reducida, o bien desoxihemoglobina, y presenta el color rojo oscuro de la sangre venosa. El equilibrio entre hemoglobina reducida y oxihemoglobina es lo que hace posible el reparto de oxígeno en el organismo.

Estas dos moléculas absorben y reflejan la luz en distinta proporción según la longitud de onda de la radiación. La oxihemoglobina absorbe más la luz en la zona del espectro infrarrojo, y transmite mejor la radiación a longitudes de onda del espectro rojo a través de ella; por el contrario, la desoxihemoglobina absorbe la luz del espectro rojo, y deja pasar la del infrarrojo.

El pulsioxímetro [4] se sirve de estas variaciones en la absorción a diferentes longitudes de onda para diferenciar la concentración de las moléculas de un fluido en función de sus propiedades; en este caso, el objetivo es identificar la hemoglobina oxigenada (oxihemoglobina) de la desoxigenada (desoxihemoglobina) en sangre pulsátil.

3.1. Funcionamiento del oxímetro

La Figura 1 muestra el coeficiente de absorción de la luz en la hemoglobina en función de la longitud de onda. En la figura se observa que a diferentes longitudes de onda los coeficientes de absorción serán distintos. Por tanto, conociendo el valor de la intensidad emitida por la fuente de luz (normalmente LEDs) y midiendo la intensidad óptica que alcanza al fotodetector, es posible determinar la cantidad de luz que ha sido absorbida y en consecuencia, conocer la concentración de hemoglobina en la sangre.

Así, el diseño del pulsioxímetro debe incorporar al menos dos fuentes de luz emitiendo en las zonas del espectro donde mayor diferencia de absorción se produzca entre las sustancias que se quieren identificar, por ejemplo en el rojo ($\lambda_1 = 710 \text{ nm}$) y en el infrarrojo ($\lambda_2 = 920 \text{ nm}$).

Las dos señales luminosas se transmiten a través de un lecho vascular pulsátil y se detectan en el extremo opuesto con un fotodetector (también se podría captar la luz reflejada y no la recibida, en cuyo caso se situaría en el mismo extremo de la emisión de luz). Para conocer el grado de oxigenación en sangre hay que procesar la información medida a cada longitud de onda por lo que se transfiere esta información a un ordenador mediante una conexión adecuada.

3.2. Funcionamiento del pulsómetro

Cuando el corazón late el flujo sanguíneo es mayor, mientras que en el momento que transcurre entre un latido y otro, el flujo sanguíneo disminuye. La diferencia entre ambas situaciones conlleva a un cambio en la absorción de la luz que atraviese el cuerpo. Por tanto, se podrá medir el pulso de un sujeto en base a la absorción, al igual que ocurría al medir la cantidad de oxígeno observando los diferentes comportamientos de las moléculas de hemoglobina y desoxihemoglobina. Así, se va a utilizar el mismo dispositivo óptico de medida de oxigenación de la

sangre para implementar un sensor de frecuencia cardiaca, utilizando la fuente de luz infrarroja.

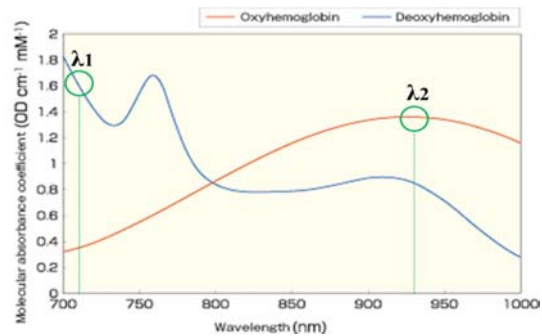


Figura 1. Ejemplo Absorción de la hemoglobina desoxigenada (curva azul) y la hemoglobina oxigenada (curva roja) en función de la longitud de onda [4]

Para calcular el número de veces que late el corazón por minuto (o lo que es lo mismo, la frecuencia cardiaca), las luces LED parpadean cientos de veces por minuto. De esta manera, el LED se enciende cuando la absorbancia es mayor, lo que coincide con el periodo en el que el corazón inicia la sístole cardiaca e impulsa sangre a todo el organismo. Este aumento de flujo y de absorbancia se detecta en el fotodetector y lo contabiliza como un latido; de esta forma se obtiene el número de latidos por minuto del paciente. La onda de pulso esperada corresponde a una especie de señal sinusoidal, la cual varía en amplitud de acuerdo a cada paciente [5].

3.3. Bases físicas de la propuesta: Ley de Beer-Lambert

El principio en el que se basa la determinación de la saturación de O_2 , con el oxímetro de pulso, es la ley de Beer-Lambert [6] que relaciona la intensidad de luz entrante en un medio con la intensidad saliente después de que en dicho medio se produzca absorción. Esta absorción viene dada por la fórmula:

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I_1}\right) = \alpha \cdot [C] \cdot \ell \quad (1)$$

donde A es la absorbancia óptica, I_0 e I_1 son respectivamente la intensidad de luz transmitida en ausencia y presencia de sustancias absorbentes, ℓ es la longitud efectiva de camino óptico y α es el coeficiente de absorción molar. Al atravesar la luz monocromática una solución, la intensidad de la luz transmitida disminuye con el aumento del espesor de la solución.

Gracias a esta ley se puede estudiar el nivel de oxigenación que existe en la sangre, y establecer unos determinados parámetros que nos permitan comprobar si se ajustan a los valores normales de un paciente, para verificar de esta manera su estado de salud.

4. Diagrama de bloques del pulsioxímetro

En la Figura 2 se muestra el diagrama de bloques del funcionamiento del pulsioxímetro. Su operación se inicia con la detección de la señal que atraviesa el tejido, su envío al microprocesador y su posterior análisis y tratamiento. El pulsioxímetro se compondrá de:

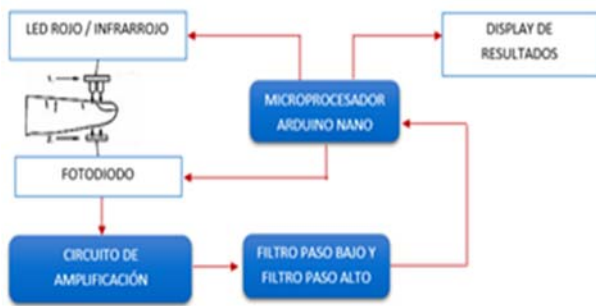


Figura 2. Diagrama de bloques del modo de operación del pulsioxímetro

- **LED RGB e Infrarrojo:** El funcionamiento básico de un LED, cuando se encuentra en polarización directa, consiste en que los electrones pueden recombinarse con los huecos, liberando energía en forma de fotones. La energía y longitud de onda del fotón se determina a partir de la banda de energía del semiconductor.
- El **fotodiodo** medirá la radiación luminosa que atraviesa el tejido. Este dispositivo genera una corriente eléctrica proporcional a la cantidad de luz que incide sobre él.
- Microcontrolador **Arduino® Nano** (Figura 3), de tamaño más reducido en comparación con otros modelos, dispone de una variedad de entradas y salidas tanto analógicas como digitales y de puertos de alimentación que proporcionan la alimentación a los componentes ópticos. Además, brinda un entorno de programación abierto que permite diseñar proyectos y algoritmos propios.



Figura 3. Microcontrolador Arduino Nano [7]

4.1. Materiales necesarios y coste

A continuación en la Tabla 1, se listan los materiales que se utilizan a lo largo de la elaboración de la parte electrónica del pulsioxímetro.

Materiales	
Arduino Nano + Display (21€)	Amplificador LM324 (0.09 €)
LED RGB (0.20 €)	LED Infrarrojo (0.20 €)
Fotodiodo SFH206K (4.00 €)	Condensador 10 uF (0.05 €)
Resistores (100K, 47K, 47K, 22K, 220) (0.40 €)	Cables de conexión (0.30 €)

Tabla 1. Desglose de materiales y precios

4.2. Diseño Electrónico

La Figura 4 muestra el esquema del circuito implementado incluyendo el filtrado de la señal. Los diferentes diagramas fueron elaborados con ayuda de la herramienta Fritzing, que es una iniciativa de software abierto que permite el diseño de circuitos electrónicos a cualquier usuario.

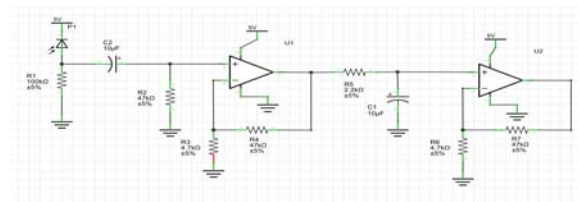


Figura 4. Esquema electrónico al diseño para el filtrado de la señal del pulsioxímetro

5. Mecánica: Diseño e implementación del soporte

Con la finalidad de cumplir con las exigencias mecánicas del proyecto, se utiliza la herramienta *CURA-3D*, diseñada con un software libre para el modelado de piezas 3D. En la Figura 5 a) se puede observar que es una forma ergonómica que se adapta sin problemas a cualquier dedo y a su vez presenta los agujeros oportunos para incluir tanto los LEDs como el fotodetector sin sufrir las consecuencias del movimiento del paciente. Una vez realizado el prototipo, éste se imprimió en una impresora 3D de libre acceso *Bq Witbox 2* obteniendo el prototipo mostrado en la Figura 5.b).



Figura 5. a) Prototipo 3D elaborado a través de la software open source CURA-3D (izquierda). b) Pieza física impresa en Witbox2 (derecha)

6. Tratamiento de Datos

El tratamiento digital de la señal, tras su filtrado y amplificación, se desarrolla en dos etapas. La primera se realiza a través del Arduino Nano y la segunda mediante el IDL Python [8].

6.1. Programación con Arduino

El microcontrolador tiene la tarea de recibir una señal analógica, obtenida del proceso de filtrado y amplificación del pulso cardíaco. En esta primera parte, se inicia con la conexión Serie con la que cuenta el microcontrolador, a una tasa de 1200 bps. Se procede al encendido del LED Infrarrojo y se da una pausa de 4 segundos para que el fotodetector se adapte al cambio; se realiza el muestreo y mapeo de la señal y se envía a través del puerto serie. De forma análoga, se implementa el mismo método de tratamiento de la señal, para el LED Rojo.

La siguiente parte consiste en la información dentro del *loop()* infinito del Arduino; está dedicada a graficar en tiempo real la señal proveniente del pulso, implementando la herramienta *Serial Plotter* incluida en la IDL del microcontrolador. Como nota final, se debe aclarar que no se puede implementar el uso del *Serial Plotter* al mismo tiempo que se envían datos a Python, ya que el Arduino solo cuenta con un puerto Serie.

6.2. Conexión con Python

El papel de Python en el tratamiento de la señal consiste en poder realizar el cálculo de latidos por minuto y el cálculo de saturación de oxígeno en la sangre.

Primero se realiza la conexión serie que recibirá la información del Arduino, en el cual se genera una pausa para que pueda enviar los datos correctamente. Después se lee el byte enviado por el microcontrolador y este a su vez es convertido a un valor entero. Todos los datos recibidos son almacenados en un vector. Este procedimiento se realiza tanto para el LED Rojo e Infrarrojo. Por último se realiza el cálculo de Latidos por minuto y Saturación de oxígeno, para su posterior impresión en pantalla.

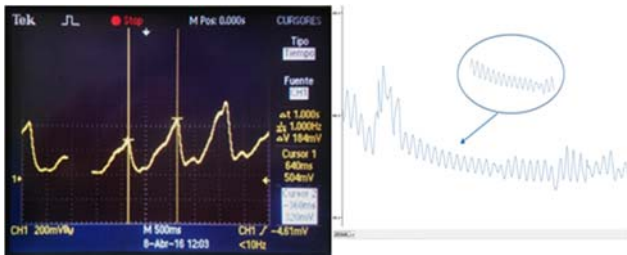


Figura 6. Onda del pulso del paciente obtenida a través del (a) osciloscopio (b) Serial Plotter de Arduino



Figura 7. Toma de datos de uno de los usuarios

6.3. Despliegue de señal

El despliegue de la señal se realiza con ayuda de un osciloscopio y la herramienta *Serial Plotter* de Arduino. En la Figura 6 (a) se muestra el resultado de la señal del paciente a través del osciloscopio. En dicha imagen se puede observar la frecuencia y forma de la señal, la cual varía de un paciente a otro. En la Figura 6 (b) se muestra la señal del pulsioxímetro desplegada con ayuda del Arduino; a diferencia del osciloscopio, la señal cuenta con una serie de senoidales que representan el pulso del paciente.

Usuario	FC(lpm)	Saturación O ₂
Usuario 1	62	96.77%
Usuario 2	63	97.11%
Usuario 3	61	100%
Usuario 4	62	100%
Usuario 5	62	98.21%

Tabla 2. Tabla de resultados en distintos pacientes siendo frecuencia cardiaca (FC) y latidos por minuto (lpm.)

7. Resultados

Una vez calibrado el programa, se procede a realizar pruebas sobre diferentes individuos y a realizar el análisis sobre los resultados. En la Figura 7 se observa una fotografía del prototipo desarrollado tomando medidas de uno de los usuarios analizados. La Tabla 2 muestra los

resultados obtenidos en 5 pacientes. Se puede observar que los valores se encuentran dentro de los rangos normales de saturación (95 -100 %) y de frecuencia cardiaca.

8. Conclusiones

Aplicando las bases de teoría de óptica y de los principios fisiológicos, combinado al manejo del entorno de programación de Arduino y Python, así como el conocimiento mecánico relacionado con la construcción de la base del dispositivo y el diseño electrónico, han permitido desarrollar un dispositivo médico utilizando herramientas de software libre que tiene su utilidad principal en la obtención de la saturación de oxígeno en la sangre y el pulso cardiaco, maximizando la utilización del mismo. Por lo que se puede decir que se ha conseguido el objetivo perseguido.

Por otro lado, el aprendizaje a través del desarrollo de un proyecto ha permitido a los estudiantes fomentar su creatividad, la responsabilidad individual, junto con la capacidad de trabajo en grupo, la capacidad crítica, la facilidad de expresar sus opiniones personales y su capacidad de tomar decisiones, entre otras cosas. Hay que destacar que los estudiantes involucrados en esta experiencia manifiestan haber conseguido:

- Una mayor motivación en el estudio de la asignatura
- Aprender las conexiones existentes entre diferentes disciplinas y entender cómo hacer uso de ellas para conseguir un objetivo
- Acercamiento a aplicaciones del mundo real
- Aplicación de herramientas de libre acceso y desarrollo de proyectos a través de las mismas
- Aumento de las habilidades sociales y de comunicación
- Aumento de la autoestima

Referencias

- [1] <http://unesdoc.unesco.org/images/0023/002329/232986s.pdf>
- [2] William Heard Kilpatrick. "The Project Method: The Use of the Purposeful Act in the Educative Process". Columbia University. October 12, 1918. people.umass.edu/~rwellman/Philosophy/Kilpatrick.pdf
- [3] Peñuela, O. A. (2005). Hemoglobina: una molécula modelo para el investigador. *Colombia Médica*, 36(3), 215-225.
- [4] <http://www.hamamatsu.com/eu/en/technology/lifephotonics/BasicResearch/OpticsBasedBiosensing/index.html> Consultado 05-2016.
- [5] Campos-Cantón, I., Martínez Garza, L. A., Vinaja Nuño, V., & Rodríguez López, P. C. (2006). Instrumentación virtual de un pulsioxímetro. *Revista mexicana de física*, 52(5), 474-478.
- [6] López-Herranz, G. P. (2003). Oximetría de pulso: A la vanguardia en la monitorización no invasiva de la oxigenación. *Revista Médica del Hospital General de México*, 66(3), 160-169.
- [7] Palacios, S., Álvarez C., Gutiérrez M., Schönfeldt P. & Céspedes J. (2010). Guía para realizar oximetría de pulso en la práctica clínica. Sociedad Chilena de Enfermedades Respiratorias.
- [8] <https://www.arduino.cc/en/Main/ArduinoBoardNano> Consultado mayo 2016.
- [9] Sanner, M. F. (1999). Python: a programming language for software integration and development. *J Mol Graph Model*, 17(1), 57-61

Cálculo de Dosis en Adquisición de Imágenes por Tomografía Computarizada

C. García¹, S. Morató¹, M. Lorduy¹, R. Miró¹, B. Juste¹, G. Verdú¹, I. Torres², C. Candela²

¹ ISIRYM, Instituto de Seguridad Industrial Radiofísica y Medioambiental, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, clagarg2@etsii.upv.es

² Servicio de Radiología, Hospital Universitario y Politécnico la Fe, Valencia, España

Resumen

El 5 de diciembre del 2013 la directiva del Tratado constitutivo de la Comunidad Europea de la Energía Atómica (Euratom) aprobó una ley que pretendía proteger a la población y a los trabajadores del daño que ocasionaban los equipos médicos con radiaciones ionizantes. Una de las medidas que se ha tomado para cumplir esta ley ha sido obligar a que todos los equipos de Tomografía Computarizada (TC) posteriores al 6 de febrero del 2018 tengan un dispositivo capaz de evaluar la dosimetría al final del tratamiento, es decir, los equipos tendrán que ser capaces de realizar un historial dosimétrico para cada paciente. Por este hecho, el presente trabajo se ha centrado en realizar una estimación de dosis en órganos cuando se realiza una prueba de TC. Para ello se ha desarrollado e implementado una metodología haciendo uso de códigos de Monte Carlo para simular la adquisición de imagen TC sobre un maniquí antropomórfico RANDO.

1. Introducción.

Actualmente, el descubrimiento de nuevas tecnologías y aplicaciones de las radiaciones ionizantes en el campo de la medicina ha hecho que se realicen más procedimientos de radiodiagnóstico médico o de radioterapia.

El 15% de radiación ionizante que recibe la población es debido a radiaciones médicas y la mitad de ese porcentaje es debido a la Tomografía Computarizada (TC) [1]. Los efectos de las radiaciones ionizantes dependen de la dosis recibida y se agravan con las sucesivas exposiciones poniendo en riesgo la salud de los pacientes.

La ley comentada anteriormente ha hecho que las líneas de investigación cambien y no se centren sólo en reducir la dosis que recibe el paciente; sino que se quiere intentar cuantificar la dosis que le llega a cada órgano del paciente para así poder optimizar la radiación utilizada y que los riesgos del TC no superen a los beneficios.

Hoy en día se sabe que según la densidad del órgano o la complejidad del paciente se necesita más o menos dosis para que la imagen se vea bien y sea de calidad. Además, algunos órganos son más radiosensibles que otros lo que hace que tengan un mayor riesgo a desarrollar un tumor [2].

Por lo tanto, se está investigando para que los equipos que se implanten después del 6 de febrero del 2018 sean capaces de detectar estas diferencias y de calcular la dosis que recibe cada órgano. Además, estos equipos se

adaptarán de forma automática proporcionando la dosis adecuada.

Lo que se intenta con la realización de este trabajo es validar el código Monte Carlo como una técnica precisa para calcular la dosis de radiación ionizante que recibe el paciente durante la realización del TC. Para ello lo que se ha hecho es comparar el código MCNP6.1.1 y el código MC-GPU para ver que la cantidad de radiación ionizante que recibe un maniquí antropomórfico RANDO cuando se le realiza una prueba de Tomografía Computarizada es prácticamente la misma en ambos códigos.

2. Material y Métodos.

2.1. Programas.

Para la realización de este trabajo se han utilizado programas capaces de modelar y mallar las reconstrucciones geométricas utilizadas. Por esta razón, se han utilizado Space Claim o SolidWorks para modelar y para la parte de mallado Abaqus/CAE. Abaqus/CAE es un software de modelado por elementos finitos muy común en resistencia de materiales para cálculo de tensiones y deformaciones, pero en este trabajo únicamente se ha utilizado su parte de pre-procesado para realizar las mallas geométricas.

Para la simulación del transporte de la radiación se ha buscado un código que se ejecutase lo más rápido posible para que el tiempo de cálculo pudiese ser aceptable, en este aspecto MC-GPU ha demostrado ser un código extremadamente ágil en sus cálculos gracias a su paralelización en GPU's. Por otro lado, también se ha utilizado el código Monte Carlo MCNP v6.1.1 el cual es un código ampliamente contrastado por lo que se han tomado sus resultados como fiables para la comparación con los resultados obtenidos con MC-GPU.

2.2. Materiales.

Para este trabajo se ha hecho uso del maniquí antropomórfico masculino RANDO (Figura 1). Este maniquí está compuesto de cinco materiales diferentes que son: hueso natural con una densidad de 1.85 g/cm^3 , un material que simula el tejido blando con densidad 1.0 g/cm^3 , tejido blando que simula los pulmones con densidad 1.05 g/cm^3 y las cavidades de aire que tienen una densidad de 0.001205 g/cm^3 .

La parte que nos interesa en este trabajo es la cabeza y parte superior del torso.



Figura 1: Maniquí antropomórfico RANDO.

Aunque todavía no se han contrastado los datos, se tomaron medidas experimentales en el interior del maniquí Rando [3], para ellos se han utilizado dosímetros MOSFETS [4] (del inglés, *Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor*) que son dispositivos electrónicos que se usan principalmente en dosimetría in vivo para registrar la dosis entregada en piel a los pacientes sometidos a tratamientos radioterapéuticos.

En este trabajo se ha utilizado un lector mobileMOSFET (Figura 2) comercializado por Best Medical. Este sistema está formado por un conjunto de 5 cinco MOSFETS modelo *TN.502RD-H*, un Software de monitorización remoto de dosis y un módulo lector que conecta el MOSFET con el Software para que el usuario pueda registrar la dosis.



Figura 2: Lector mobileMOSFET

2.3. Métodos.

En el *Hospital Universitario y Politécnico la Fe* de Valencia se ha realizado un estudio de Tomografía Computarizada al maniquí antropomórfico Rando obteniéndose un conjunto de imágenes DICOM que pueden verse en la Figura 3.

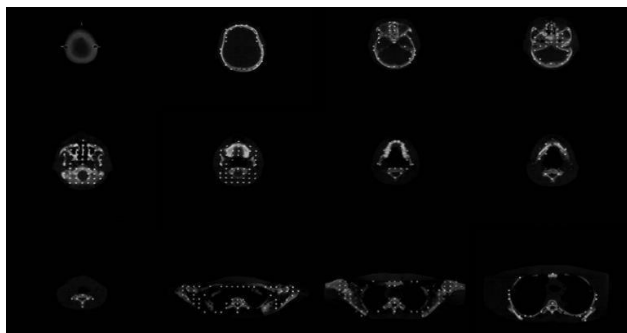


Figura 3: Imágenes DICOM del maniquí antropomórfico RANDO.

Estas imágenes se han procesado mediante un programa propio para obtener los archivos de voxelizado que se utilizan posteriormente en las simulaciones MC-GPU y MCNP.

Este programa se ha creado en entorno MATLAB y está compuesto de diferentes funciones que permiten la conversión de formatos, entre ellas, la creación de archivos de visualización de resultados en formato “.vtk”, además de la comentada anteriormente.

Se realizó la reconstrucción de la geometría utilizando diferentes tamaños de voxelizado buscando un equilibrio entre el tamaño de voxel y la velocidad de cálculo (Figura 4). Finalmente, el voxelizado que se ha utilizado tiene 106 voxels en el eje X, 70 en el eje Y y 80 en el eje Z y su tamaño es de 0.37677 cm en el eje X, 0.37901 cm en el eje Y y 0.5 cm en el eje Z.

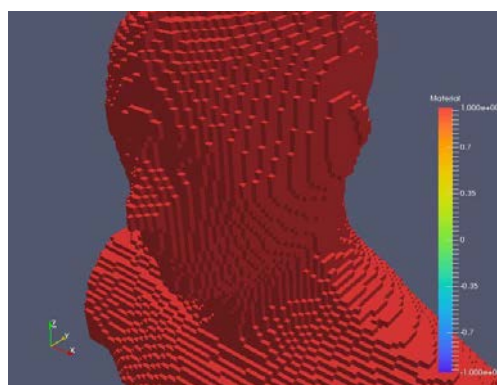


Figura 4: Voxelizado del maniquí RANDO.

2.4. Simulación MC-GPU.

MC-GPU es un código Monte Carlo basado en PENELOPE que ha sido modificado para la simulación de adquisición de imágenes TC y se ha adaptado para su uso paralelizado en GPU's que hacen uso de la tecnología CUDA disminuyendo de forma significativa los tiempos de simulación. MC-GPU utiliza un código modificado de PENELOPE aligerado, ya que MC-GPU únicamente simula el transporte de fotones, siendo una de las razones a las que se debe su elevada velocidad de cálculo. [5]

Como parámetros de simulación se ha utilizado una fuente con un espectro de 60 keV, distancia de la fuente al centro de rotación 75 cm, distancia de la fuente al detector 150 cm, tamaño del detector 113x113 cm, resolución del detector 512x512 pixels, número de partículas 10^8 y 2496 gpu's.

Tras la simulación con el código MC-GPU se generan dos archivos de salida con las matrices de resultados. En el primer archivo que se convierte a formato “.vtk” con el programa conversor antes mencionado se puede ver la dosis que le llega al maniquí antropomórfico (Figura 5).

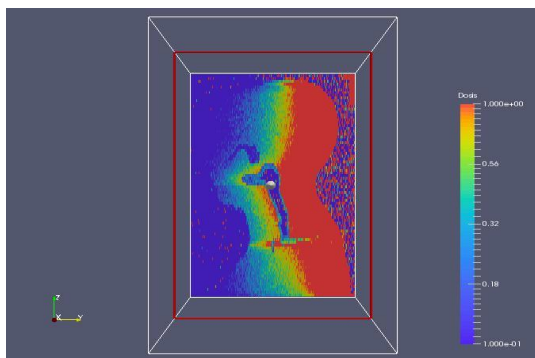


Figura 5: Imagen de la dosis recibida por el maniquí RANDO [MeV/g s].

El segundo archivo que se genera tras la simulación no es más que un conjunto de matrices con los valores de fluencia de energía que alcanza el detector. Este archivo de nuevo se cambia de formato de manera que se puede representar una imagen similar a la que obtendríamos al realizar una radiografía (Figura 6).

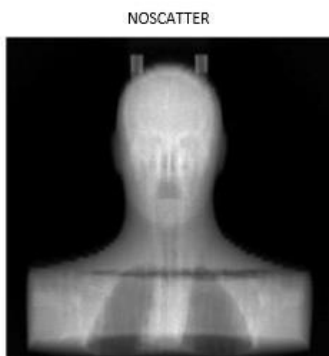


Figura 6: Imagen radiográfica simulada con MC-GPU del maniquí RANDO.

2.5. Simulación MCNP.

Monte Carlo N-Particle (MCNP versión 6.1.1) [6], es un código de uso general de transporte de partículas desarrollado en Los Alamos National Laboratory. Esta nueva versión del código permite como novedad el uso de geometrías malladas, incluso dispone de una herramienta capaz de convertir el archivo de voxelizado MCNP a un nuevo archivo de malla [7]. A continuación, podemos visualizar este archivo de malla con el software Abaqus/CAE:

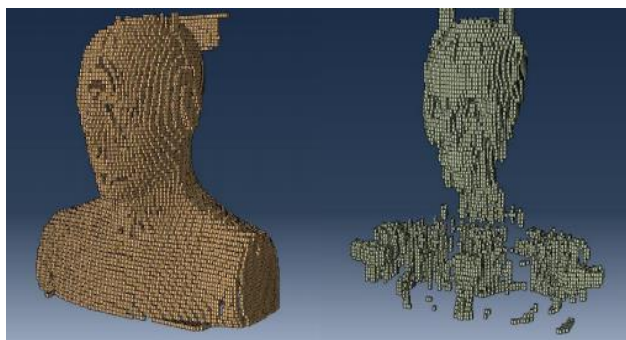


Figura 7: Voxelizados correspondientes al tejido blando y el hueso del maniquí RANDO.

La simulación se ha realizado con los mismos parámetros que los utilizados en la simulación MC-GPU, el único aspecto diferenciable es que en MCNP se ha utilizado una paralelización de procesadores CPU con protocolo MPI con un total de 12 procesadores.

Tras la simulación MCNP obtenemos un archivo de salida con grandes matrices de resultados de dosis, para obtener las mismas unidades que en MC-GPU fue necesario incluir conversores de flujo a dosis. Este archivo de salida se convierte de nuevo a un formato “.vtk”. De esta forma, se puede ver la dosis total suministrada al maniquí antropomórfico Rando uniendo todos los materiales o la dosis aportada a cada material (Figura 8), todo esto de nuevo gracias a nuestro programa convertidor de formatos.

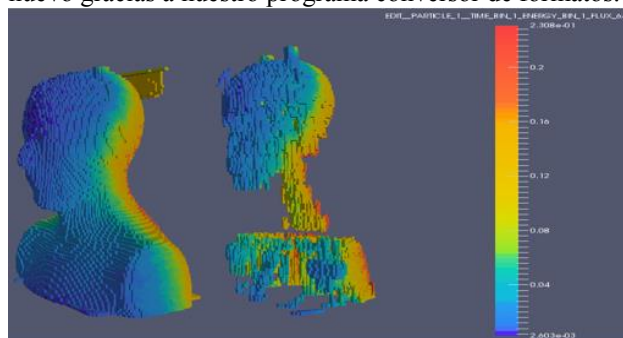


Figura 8: Dosis suministrada a cada parte del maniquí RANDO [MeV/g s].

3. Resultados.

A continuación se muestra una tabla resumen de los datos de ejecución más importantes del código MCNP y de MC-GPU [8].

DATOS DE EJECUCIÓN		
	MCNP nuevo	MC-GPU
Nº partículas	100000000	100000000
Nº procesadores	12	--
Nº GPU	--	2496
Tiempo ejecución	1262 minutos	10.340 segundos

Tabla 1. Datos de ejecución del nuevo código de MCNP y de MC-GPU.

Para realizar la comparación se ha seleccionado en ambos archivos una región en la cabeza que contenía los 4 materiales. En esta región seleccionada se ha analizado la dosis suministrada a 45 celdas y se ha observado que la diferencia entre la dosis en las celdas de MC-GPU y MCNP es mínima tal y como se presenta en la siguiente tabla. Para obtener esta diferencia se ha calculado el error absoluto y relativo de las 45 celdas.

ERROR ABSOLUTO		ERROR RELATIVO PORCENTUAL					
1	0.01	24	0.46	1	50	24	15.91
2	0.014	25	0.69	2	41.17	25	22.92
3	0.014	26	0.7	3	31.81	26	21.87
4	0.009	27	0.74	4	18.36	27	22.46
5	0.01	28	0.84	5	16.67	28	24.7
6	0.025	29	0.27	6	6.67	29	6.65
7	0.04	30	0.3	7	15	30	7.19
8	0.301	31	0.56	8	1.01	31	13.27
9	0.96	32	0.17	9	7.84	32	3.6
10	1.34	33	0.32	10	25	33	6.55
11	0.65	34	0.27	11	30.08	34	5.06
12	0.45	35	0.24	12	34.88	35	4.39
13	0.19	36	0.34	13	11.17	36	5.97
14	0.13	37	0.2	14	6.98	37	3.22
15	0.135	38	0.56	15	7.12	38	8.43
16	0.146	39	0.24	16	6.87	39	3.35
17	0.16	40	0.37	17	7.47	40	4.36
18	0.26	41	0.25	18	12.03	41	2.61
19	0.42	42	0.52	19	18.44	42	4.82
20	0.55	43	0.47	20	23.6	43	3.95
21	0.45	44	0.84	21	18.44	44	6.08
22	0.41	45	0.4	22	15.58	45	2.87
23	0.35			23	12.63		

Tabla 2: Error absoluto y error relativo porcentual entre MCNP y MC-GPU.

Los errores elevados son debidos a celdas que se encuentran en zonas periféricas respecto al área de incidencia del haz. Al simularse en esta zona el transporte de un menor número de partículas, la incertidumbre estadística aumenta, con lo que sería necesario simular un mayor número de partículas alargando el tiempo de cálculo significativamente para poder disminuir estos errores.

Al calcular la media del error relativo se observa que es de 13.76%. Por tanto, queda demostrada la validez de este método al considerar que se obtienen buenos resultados cuando comparamos MC-GPU con el nuevo método de MCNP.

4. Conclusiones.

El principal objetivo de este trabajo ha sido comparar los resultados de dosis obtenidos mediante simulaciones con MCNP y el código MC-GPU. Para ello ha sido necesario un estudio preliminar de la morfología de los haces en uno y otro código, ya que presentaban discordancia en este aspecto debido a que en MCGPU el haz colimado tiene forma piramidal mientras que en MCNP tiene forma cónica.

Se ha conseguido una visualización de los resultados tridimensional que facilita el acceso a los resultados en cualquier punto de nuestra geometría de una forma rápida y sencilla mediante el uso del software de visualización.

Se ha comprobado que, aunque el uso de la nueva versión de MCNP conlleva una mejora en la velocidad de cálculo debido al uso de mallas geométricas, MCNP sigue estando lejos de poder ser una opción viable para el cálculo de la dosis de un paciente de TC. Sin embargo, la paralelización en GPU's de MC-GPU se ve reflejada en la gran rapidez de cálculo que muestra este código Monte Carlo por lo que es un buen candidato para el cálculo de dosis en adquisición de imágenes TC.

Como línea futura se planteará la comparación de medidas experimentales tomadas en colaboración con el Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia con resultados de dosis obtenidos por simulación MC-GPU, así como estimar la contribución a la dosis debida a los electrones que MC-GPU no considera.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer al Hospital Universitario y Politécnico la Fe de Valencia por su ayuda en la realización de este trabajo.

Referencias

- [1] Calvo, N. (2014). Importancia del desarrollo tecnológico en la reducción de la dosis de radiación en TAC. Recuperado el 6 del 06 de 2016 de <http://goo.gl/B014zV>
- [2] Hospital General C.H. Carlos Haya. Dr. Jorge Contreras Martínez. Radiobiología. Recuperado el 7 del 06 de 2016. <https://goo.gl/gali2X>
- [3] Abella, V., Juste, B., Miró, R., Santos, A., Verdú, G. "Uso de detectores MOSFET para verificar y validar el tratamiento de radiación Monte Carlo en un maniquí antropomórfico".
- [4] Best Medical Canada (2016). MobileMOSFET, II Sistema di controllo dose Wireless.
- [5] Jia, X., Gu, X., Sempau, J., Choi, D., Majumdar, A., & Jiang, S. B. (2010). "Development of a GPU-based Monte Carlo dose calculation code for coupled electron-photon transport". *Physics in medicine and biology*, 55(11), 3077.
- [6] Laboratorio Nacional de Los Alamos. (2016). Monte Carlo Code Group.
- [7] Roger L. Martz, "The MCNP6 Book On Unstructured Mesh Geometry: User's Guide", LA-UR- 11-05668 Rev. 8, MCNP6 code release to RSICC, Oak Ridge, TN and general distribution.
- [8] U.S. Food and Drug Administration. (2015). "Monte Carlo simulation of X-ray Transport in a GPU with CUDA (MC-CPU)".

Nuevo método para la segmentación automática del cartílago rotuliano basado en un método de crecimiento de regiones direccional

M. Pérez Pelegrí¹, I. Bosch Roig², R. Sanz Requena³

¹ Estudiante del Máster en Ingeniería Biomédica, Universidad de Barcelona, Barcelona, España, mapepe18@gmail.com

² Departamento de Comunicaciones, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, igbosroi@dcom.upv.es

³ Ingeniería Biomédica, Hospital Quirónsalud Valencia, Valencia, España, roberto.sanz@quironsalud.es

Resumen

En este artículo se presenta y describe un nuevo método automático para la segmentación del cartílago rotuliano a partir de imágenes de resonancia magnética de rodilla. El algoritmo se basa en la aplicación de un método de crecimiento de regiones direccional. Como principales focos en el desarrollo del algoritmo, se destacan los métodos para la obtención de semillas para el inicio de crecimiento y para la parada del crecimiento. Para la determinación del punto de parada del crecimiento se han desarrollado dos métodos que se han denominado Growing Stop y Overflow Trimming. A su vez un último método se desarrolló como combinación de estos, referido como método combinado. Se realiza una descripción del método de segmentación, así como una comparación entre los métodos para el paso final de determinación de la parada del crecimiento.

1. Introducción

Las enfermedades degenerativas del cartílago articular como la artrosis tienen una alta prevalencia en sociedades avanzadas y se relacionan directamente con el envejecimiento de la población. En la actualidad se han convertido en un problema socio-sanitario considerable, con un fuerte impacto económico [1].

Las imágenes de resonancia magnética (RM) son sensibles a la hora de detectar alteraciones en el cartílago, dado que proporcionan alto contraste y resolución espacial [2]. En la actualidad, los radiólogos realizan sus análisis sobre el cartílago de una manera subjetiva, basándose en propiedades cualitativas como hiperintensidades locales o medidas básicas de longitud. Actualmente realizar análisis cuantitativos más complejos no es viable en el ámbito clínico, pues el tiempo requerido para la segmentación manual es muy elevado. En este contexto, los métodos de segmentación automática pueden ofrecer una ayuda importante para la realización de análisis más exhaustivos. Esto cobra especial interés en la detección precoz de la degeneración del cartílago en sus fases iniciales.

En estos momentos existen varias investigaciones que han abordado la segmentación automática del cartílago articular. Se han realizado revisiones de la mayoría de ellos [3]. Entre ellos encontramos algunos ejemplos basados en snakes, técnicas de basadas en el análisis de texturas y decisión bayesiana, reconocimiento de patrones o atlas. La mayoría de estas técnicas emplean métodos que requieren

establecer parámetros iniciales o de un entrenamiento inicial, además de presentar tiempos de segmentación elevados haciéndolos menos prácticos.

La segmentación automática del cartílago ha demostrado ser un problema difícil que requiere de un mayor estudio. Los métodos propuestos hasta ahora se centran en todos los cartílagos de la rodilla. En este artículo se centra en el cartílago rotuliano, aunque alguno de los pasos propuestos en las técnicas podrían ser extendidas y adaptadas para el resto de cartílagos. El diseño de los algoritmos se realizó basándose en la morfología normal del cartílago rotuliano, pero los mismos se evaluaron tanto en casos normales como en casos de artrosis donde la morfología estaba alterada. Las imágenes utilizadas corresponden a secuencias T1 con excitación selectiva del agua. La resolución de los estudios es de 0.293 mm por pixel y 1 mm por corte.

2. Descripción del algoritmo

El método automático para la segmentación del cartílago rotuliano se basa en la técnica de crecimiento de regiones [4]. En ella se parte de una o varias semillas extraídas del objeto a segmentar (cartílago rotuliano en este caso), y estableciendo un criterio de crecimiento se van añadiendo píxeles a la máscara hasta completar la segmentación del objeto. Para aplicar este procedimiento de forma automática, es necesario establecer un método de detección automático de las semillas, un criterio de crecimiento de la máscara y un criterio de parada del crecimiento para evitar la inclusión del cartílago femoral.

Para la extracción de semillas se desarrolló una técnica para la detección de los puntos que conforman el contorno del cartílago utilizando una región de alta probabilidad de presencia del contorno del cartílago a modo de ROI (region of interest). Como criterio de crecimiento se establecieron 2 condiciones: una basada en la dirección del crecimiento y otra en el valor de los píxeles. Por último, para la determinación de la parada del crecimiento y evitar la incorporación del cartílago femoral se diseñaron varias técnicas: método Growing Stop, método Overflow Trimming y método combinado.

3. Extracción automática de semillas

Las semillas a utilizar como base para el crecimiento de regiones fueron los píxeles correspondientes al contorno del cartílago en contacto con la rótula. Estos puntos son fácilmente detectables en las imágenes del gradiente pero no pueden extraerse de forma directa. Para ello, se generó en primer lugar la ROI, que aplicada a cada imagen del conjunto permite la detección de los puntos del contorno aplicando umbrales sencillos (figura 1).



Figura 1. Extracción del contorno del cartílago (derecha) a partir de la imagen gradiente (centro) y la máscara ROI (izquierda)

Para la generación de la ROI de forma automática se generó una imagen artificial a partir de las imágenes del gradiente de todo el volumen (serie de imágenes de RM de la rodilla adquiridas en corte sagital). Aplicando una proyección de máximos se generan imágenes en las que la zona correspondiente al contorno del cartílago tiene un alto contraste, permitiendo la delimitación de una ROI que facilita la obtención del contorno del cartílago (figura 2).

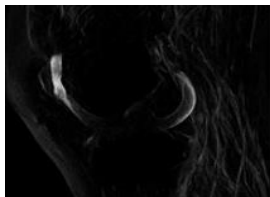


Figura 2. Imagen de proyección de máximos de los gradientes. A partir del conjunto de las imágenes gradiente en sagital se obtiene una proyección de máximos. Esta imagen permite la extracción de una ROI como la de la figura 1

4. Crecimiento de regiones direccional

Una vez obtenidas las semillas como punto de partida, puede dar comienzo el crecimiento de la máscara. Se establecieron dos criterios de crecimiento.

El primero, un criterio de valor de intensidad de píxel, que determina cuando un píxel se ha de incorporar o no. Dado que el cartílago presenta valores de píxel altos, el criterio se estableció de tal forma que solo se incluirían los píxeles cuyo valor superara la media menos la desviación típica de los puntos ya incluidos en la máscara, de esta forma los píxeles pertenecientes a tejidos circundantes no se añaden dado que presentan valores considerablemente menores.

El segundo criterio es el de direccionalidad, que determina que el crecimiento solo se dará en la dirección antero-posterior (en la imagen, solo habrá crecimiento hacia la derecha). Así, se evita el posible crecimiento hacia zonas superiores e inferiores que pueden presentar tejidos con altos valores de píxel en algunos casos.

En la figura 3 se puede visualizar un ejemplo del crecimiento donde en la última iteración aparece incorporado parte del cartílago femoral. Este problema se

ha resuelto con los métodos que se describen en los siguientes apartados.



Figura 3. Ejemplo de crecimiento de regiones direccional. La primera iteración corresponde al contorno inicial cuyos puntos sirven de semillas. En la última iteración se ha incorporado parte del cartílago femoral

5. Método Growing Stop

El método Growing Stop busca determinar la iteración de parada del crecimiento para evitar la incorporación del cartílago femoral a la máscara. Para ello, se realiza un análisis de los puntos inferiores de la máscara según esta va creciendo. La zona de contacto entre ambos cartílagos determina un cambio en la tendencia en la posición de estos puntos inferiores, pues suelen formar una forma convexa en la imagen o cóncava al representarlo como una función de las filas que ocupan en la matriz de la imagen (figura 4)

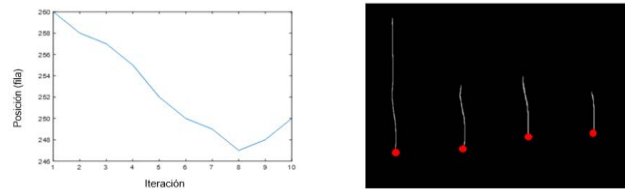


Figura 4. Gráfico de la función de posición de los píxeles inferiores (izquierda). Ejemplos de píxeles añadidos en sucesivas iteraciones, donde los puntos inferiores a analizar están resaltados en rojo (derecha)

De esta forma se puede definir la iteración de parada como el punto en el que la función de posición de los puntos inferiores sufre una variación brusca en su tendencia.

El método consigue unos buenos resultados de segmentación, pero insuficientemente precisos. Esto se debe a que pueden aparecer variaciones de tendencia antes de llegar a la zona de contacto entre ambos cartílagos, con lo que se pueden obtener máscaras como la de la figura 5, en la que una parte del cartílago rotuliano queda fuera de la máscara.

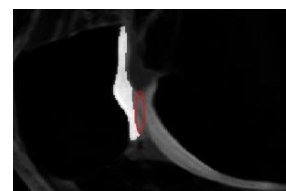


Figura 5. Ejemplo de máscara obtenida con el método Growing Stop. La elipse roja delimita parte del cartílago rotuliano que no se incorporó

6. Método Overflow Trimming

El método Overflow Trimming busca el punto de parada de forma diferente al Growing Stop. En este caso en lugar de buscar una variación en la función de posición de los puntos inferiores, lo que busca es una tendencia

determinada. Para ello se permite de forma deliberada la incorporación de parte del cartilago femoral. Esto se realiza estableciendo un límite de iteraciones lo bastante alto como para asegurar que se sobrepasa el grosor del cartilago rotuliano (en el caso de que haya presencia del femoral). En este estudio se utilizaron 25 iteraciones que, dada la resolución de las imágenes equivalía a 7,325 mm, que es mucho más que el valor del grosor del cartilago rotuliano [5].

Al permitir el crecimiento deliberado de la máscara por parte del cartilago femoral habrá un punto en el que inevitablemente la función de posición de los puntos inferiores tome la forma de una recta de pendiente 1 (figura 6). Esto se debe a que la máscara ha de descender en cada iteración un píxel dada la forma del cartilago femoral cerca de la zona de contacto entre cartilagos, que presenta una forma descendente como se aprecia en la figura 6.

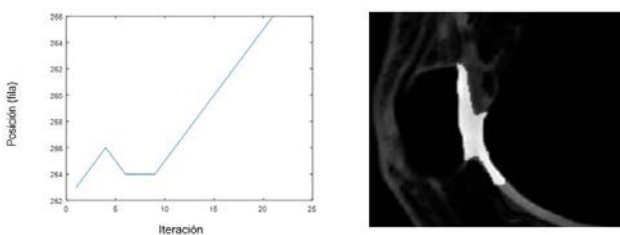


Figura 6. Gráfico de las posiciones de los píxeles inferiores (izquierda), la recta de pendiente 1 se corresponde con la incorporación del cartilago femoral (derecha)

Tras determinar el punto de inicio de esta pendiente se realiza un recorte de la máscara a partir de él. A continuación se realiza una interpolación del contorno resultante para obtener una forma del cartilago más suave. Para ello se utilizan los píxeles inferiores y superiores de la máscara que se han ido seleccionando según crecía la máscara. Como método de interpolación se utilizó el método pchip (piecewise cubic hermite interpolation polynomial) que utiliza una variación de splines cúbicos que permiten mantener la forma del objeto sin presentar sobreoscilaciones. En la figura 7 se puede ver un ejemplo del proceso de interpolación de forma gráfica.

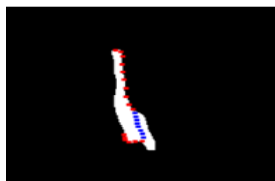


Figura 7. Interpolación del contorno del cartilago. Los puntos rojos se corresponden con los puntos inferiores y superiores seleccionados. Los puntos azules son los generados mediante la interpolación pchip.

El método Overflow Trimming presenta unos resultados bastante mejores que el Growing Stop. Sin embargo este método no está carente de fallos. Concretamente presenta un tipo de fallo que da lugar a máscaras erróneas con peores resultados que el método Growing Stop. Podemos ver un ejemplo de estas máscaras erróneas en la figura 8. Este tipo de máscaras aparecen cuando se produce un error

en la selección del punto de recorte determinando una mala selección de los puntos para realizar la interpolación dando lugar a la generación de una máscara errónea. Estas máscaras erróneas son infrecuentes, con tasas de aparición por caso de entre 0 y 4%. En el futuro se plantea el estudio en mayor profundidad de las causas de generación de estas máscaras fallidas.

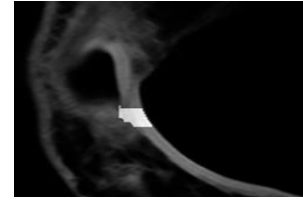


Figura 8. Máscara errónea generada por una interpolación incorrecta con el método Overflow Trimming

7. Método combinado

El método combinado utiliza los dos métodos descritos anteriormente para obtener unos resultados mejores. Utiliza como base el método Overflow Trimming y el método Growing Stop como elemento corrector. Así, se utiliza el método Growing Stop, que no presenta máscaras con errores de interpolación, para corregir las máscaras erróneas que en ocasiones aparecen con el método Overflow Trimming. Las máscaras corregidas pueden no ser perfectas (pues el método Growing Stop no ofrece generalmente resultados perfectos) pero serán más exactas que las máscaras erróneas.

Antes de poder aplicar la corrección es necesario detectar de forma automática las máscaras erróneas. Para ello se aplican dos filtros: un filtro de excentricidad y otro de tamaño. Se calcularán estos dos parámetros para cada una de las máscaras. En el plano sagital el cartilago rotuliano se puede aproximar a una forma rectangular, por lo que las máscaras normales presentarán valores altos de excentricidad en comparación a las erróneas. Por otra parte las máscaras erróneas generalmente presentan tamaños menores que las correctas. Se estableció que si en alguno de estos parámetros la máscara presentaba un valor menor que la media menos 2 desviaciones típicas del conjunto, la máscara se clasificara como errónea y fuera seleccionada para ser recalculada con el método Growing Stop.

8. Resultados

Para comprobar el rendimiento de los métodos se realizó una comparación calculando los coeficientes de Dice [6] obtenidos con cada método y que dan una medida entre el solapamiento entre las máscaras obtenidas con el método automático y la segmentación manual (considerado el gold standard). La ecuación del coeficiente aparece en la ecuación 1:

$$DC = \frac{2 |A \cap B|}{|A| + |B|}$$

Ecuación 1. Ecuación del coeficiente de Dice

Donde A y B son las máscaras segmentadas con el método automático y de forma manual, respectivamente. Los métodos se probaron sobre 9 casos de pacientes con

morfología normal del cartilago y 9 casos de artrosis con morfología del cartilago alterada.

Para el análisis de los resultados se compararon los métodos Overflow Trimming y Growing Stop en las dos clases de pacientes. En la tabla 1 se pueden ver los resultados de las distribuciones en cada caso, donde se ve claramente que el método Overflow Trimming supera al Growing Stop.

Distribución	Media	Desviación típica
Growing Stop (casos normales)	0,8156	0,0336
Growing Stop (casos artrosis)	0,7092	0,0518
Overflow Trimming (casos normales)	0,9225	0,0232
Overflow Trimming (casos artrosis)	0,7858	0,0597

Tabla 1. Distribuciones de los resultados del coeficiente de Dice para cada tipología y con cada método

Se realizó a su vez un test ANOVA para ver si las diferencias de los resultados eran estadísticamente significativas de un método a otro, considerando como significativo un p-valor de 0,05. Los p-valor obtenidos en ambas situaciones fueron de $6,987e-7$ (test de casos normales) y 0,0159 (test de casos con artrosis). Por lo que se concluye que las diferencias son estadísticamente significativas, y que el método Overflow Trimming es más preciso por presentar valores de Dice más elevados. Se pueden ver ejemplos del cartilago segmentado con el método Overflow Trimming en la figura 9.

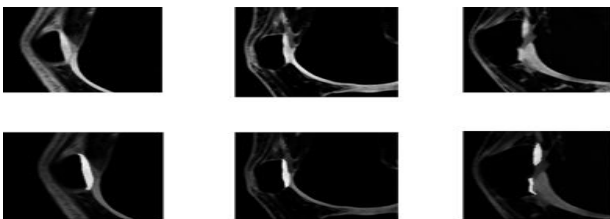


Figura 9. Ejemplos de resultados de segmentación con el método Overflow Trimming. El ejemplo de la derecha es un caso de artrosis

Se comprobó que el método combinado corrige los casos erróneos, pero al ser estos poco frecuentes hay poca variación en cuanto a los coeficientes de Dice obtenidos con el método Overflow Trimming. Sin embargo, es asumible que el método combinado es mejor que el Overflow Trimming, pues ofrece sus mismos resultados añadiendo el factor de corrección si aparecen máscaras erróneas. Esta mejoría no es detectable a nivel estadístico, dado que estamos usando un Dice aplicado a todo el volumen. Pero dado que el método Growing Stop no genera estas máscaras, la mejoría a nivel de imagen individual es un factor importante.

En cuanto los tiempos de computación, resultaron similares con todos los algoritmos, con un tiempo de entre 30 y 60 segundos (dependiendo del número de imágenes a segmentar) para segmentar un volumen. El testeó se realizó con un ordenador portátil (Intel(R) Core(TM) i7-4702MQ CPU @ 2.20GHz and 8.00 GB RAM) utilizando el software MATLAB (R2015a, The Mathworks Inc., Natick, MA, USA).

9. Conclusiones y trabajo futuro

Se ha propuesto un método automático para la segmentación del cartilago rotuliano que es eficiente y ofrece unos resultados superiores a otros métodos descritos hasta hoy a nivel de precisión y de consumo de tiempo, tanto en casos de morfología normal como alterada. La precisión y rapidez ofrecida es lo suficientemente alta como para ser útil y práctico en un ambiente clínico. De esta forma, el uso de este método permitiría realizar un análisis mucho más completo y personalizado al posibilitar análisis cuantitativos del cartilago en un tiempo razonable.

Hay que considerar también las limitaciones que presenta, pues la segmentación se realiza únicamente sobre el cartilago rotuliano, mientras que otros métodos permiten la segmentación del resto al mismo tiempo. En este sentido, las técnicas descritas podrían ser estudiadas y adaptadas para la segmentación del resto de cartilagos para ampliar el alcance de las mismas.

En el futuro se plantea la posibilidad de estudiar las técnicas utilizadas en mayor profundidad, con el objetivo de ampliar y mejorar su aplicabilidad. Del mismo modo se plantea la implementación del método junto a técnicas de registro de imagen y de obtención de parámetros para la realización de diagnósticos más completos a través de un flujo de trabajo bien establecido.

Agradecimientos

Agradecemos al Hospital Quirón de Valencia el aporte de material necesario para el desarrollo de este proyecto.

Referencias

- [1] Krasnokutsky S, Samuels J, Abramson SB. Osteoarthritis in 2007. *Bulletin-Hospital of joint diseases New York*, vol 65, no 3, 2007, pp 222.
- [2] Crema MD, Roemer FW, Marra MD, Burstein D, Gold GE, Eckstein F, Baum T, Mosher TJ, Carrino JA, Guermazi A. Articular cartilage in the knee: current MR imaging techniques and applications in clinical practice and research. *Radiographics*, vol 31, no 1, 2011, pp 27-62.
- [3] Ryzhkov MD. Knee Cartilage Segmentation Algorithms: a critical Literature Review. 2015.
- [4] Kamdj S, Krishna RK. Image segmentation and region growing algorithm. *International Journal of Computer Technology and Electronics Engineering (IJCTEE)*, vol 2, 2012.
- [5] Draper CE, Besier TF, Gold GE, Fredericson M, Fiene A, Beaupre GS, Delp SL. Is cartilage thickness different in young subjects with and without patellofemoral pain?. *Osteoarthritis and cartilage*, vol 14, 2006, pp 931-937.
- [6] Zou KH, Waterfiel SK, Bharatha A, Tempany CM, Kaus MR, Haker SJ, Kikinis R. Statistical validation of image segmentation based on spatial overlap index 1: Scientific reports. *Academic Radiology*, vol 11, 2004, pp 178-189.

Realce de imágenes mamográficas para su análisis y clasificación mediante un sistema CAD basado en redes neuronales convolucionales

R. Rodríguez¹, Á. Planchuelo¹, B. Yébenes¹, B. Ríos², C. Sánchez²

¹ Universidad Politécnica de Madrid, España, {roque.rodriguez.outeiral, a.planchuelo.gomez, belenyebenes}@gmail.com

² Centro de Domótica Integral de la Universidad Politécnica de Madrid, España, {brios@cedint.upm.es, carmen.sanchez.avila@upm.es}

Resumen

El cáncer de mama es una de las neoplasias de mayor incidencia en la actualidad. No obstante, es posible reducir su mortalidad mediante una detección precoz que permita realizar un tratamiento efectivo. Para ello, la mamografía sigue siendo la técnica más extendida, por su rapidez, sencillez y bajo coste. Dadas las características de este tipo de imágenes, su análisis e interpretación pueden resultar complicados incluso para radiólogos experimentados. De este modo, el aumento de la calidad de las imágenes es de gran utilidad, puesto que facilita las tareas diagnósticas. Este trabajo presenta una comparativa de distintos métodos de realce de imágenes aplicados a mamografías. En particular se han utilizado técnicas de realce de contraste mediante wavelets y modificación adaptativa del histograma y de aumento de resolución mediante lógica difusa. Para evaluar cuantitativamente los resultados, se han incluido estos métodos dentro de un sistema CAD basado en redes neuronales convolucionales, que busca identificar si la imagen es patológica o no, y en caso afirmativo, distinguir entre masas y microcalcificaciones.

1. Introducción

La mama humana la forman diferentes tipos de tejidos: adiposo, vascular, linfático, conectivo y glandular. Como el resto de células del organismo, las células del tejido glandular se reproducen de manera controlada a lo largo de la vida del individuo. Debido a mutaciones genéticas, dicha reproducción puede descontrolarse derivando en la aparición de tumores. Si estos tumores son de crecimiento lento y morfología similar a la de las estructuras celulares sanas, se consideran benignos. Si por el contrario crecen rápido, infiltran los tejidos adyacentes y pueden llegar a metastatizar en otras partes se consideran malignos y son comúnmente conocidos como cáncer de mama.

El cáncer de mama es el tumor maligno más frecuente en mujeres y es una de las neoplasias con mayor índice de mortalidad a nivel mundial [1]. Un diagnóstico lo suficientemente precoz de esta enfermedad permite un tratamiento con éxito en prácticamente la totalidad de los casos. La detección de esta enfermedad se centra en la búsqueda y caracterización de un bulto en la mama que corresponda con un nódulo o tumor. La mayor parte de estos nódulos son benignos y no presentan riesgo para la salud, al contrario que los malignos. Por ello, es fundamental discernir entre ambos. La presencia del tumor en la mama se puede revelar bien mediante la detección directa de la masa o por la presencia de signos indirectos tales como las microcalcificaciones, que si bien

no implican necesariamente el desarrollo de la enfermedad, indican un exceso de la actividad celular, como la que se produce durante la formación de un tumor. Este exceso de actividad es fundamental para el diagnóstico del cáncer y para su futuro tratamiento, y es en este punto donde el diagnóstico por imagen juega un papel fundamental ya que permite detectar microcalcificaciones y masas, y determinar si son benignas o malignas.

La técnica de diagnóstico más extendida hoy en día es la mamografía debido a su sencillez, eficacia y bajo coste. A pesar de las ventajas que presenta, la visualización de estructuras anómalas como microcalcificaciones o masas en este tipo de imagen puede resultar compleja, incluso para un radiólogo experto, puesto que el tejido mamario es muy denso y ruidoso. Por ello, el uso de diversas técnicas de procesamiento de imagen y visión artificial puede resultar una ayuda fundamental en el diagnóstico.

En las últimas décadas se han desarrollado muchos sistemas de detección y ayuda al diagnóstico por ordenador (CAD) con el fin de asistir a los facultativos en sus valoraciones clínicas a partir de mamografías. El empleo de dichos sistemas consigue aumentar el ratio de detección de la enfermedad así como la detección precoz facilitando el tratamiento de la patología [2]. De este modo, estos sistemas reducen los costes sanitarios en diversos sentidos: por un lado se reduce el tiempo empleado en el diagnóstico, al ofrecer una opinión de partida o con la que contrastar, y por otro, se disminuyen los costes económicos y psicológicos derivados de pruebas adicionales como más mamografías o biopsias.

El rendimiento de este tipo de sistemas se ve especialmente afectado por el ruido, el bajo contraste o la resolución espacial, efectos que se pueden paliar mediante el realce de las imágenes. Este trabajo pretende demostrar cómo el realce de la imagen mamográfica a partir de diferentes algoritmos de procesamiento de imagen puede mejorar la calidad de la imagen aumentando su resolución, realzando sus características o su contraste e incluso reduciendo el ruido. Con este fin se han implementado técnicas de los diferentes dominios usados en realce de mamografía: el método CLAHE de realce de contraste (dominio del espacio), un algoritmo basado en *wavelet*, técnica que emplea el dominio de la frecuencia con resolución no fija, y tres variantes del algoritmo Fuzzy ELA, un conocido método de magnificación de las

imágenes mediante interpolación por lógica difusa. Las imágenes obtenidas por estos algoritmos se han introducido en un sistema CAD que utiliza redes neuronales como clasificador, lo que ha permitido obtener una valoración cuantitativa de los resultados.

2. Realce de imágenes mamográficas

2.1 CLAHE

La ecualización adaptativa del histograma de contraste limitado (CLAHE) [3] es una técnica donde el histograma de la imagen resultante se calcula a partir del histograma de una ventana local centrada cada pixel, denominada región vecindario [4].

De la misma manera que el algoritmo presentado en [5], se modifica el valor de la intensidad de la imagen de forma no lineal para maximizar el contraste en todos los píxeles, pero limitando el contraste máximo estableciendo un valor límite con el fin de evitar el realce del ruido. Al establecer un factor máximo de contraste en el histograma se limita la cantidad de realce de contraste y, por lo tanto, también del ruido. El factor máximo de contraste es un parámetro que se suele establecer en función de las características de la imagen que se realza.

Para ello, se divide la imagen en regiones del mismo tamaño sin solapamiento. Tras esto se calcula el histograma de cada una de estas regiones. La amplificación del contraste en cada región de píxeles viene dada por la pendiente de la función de transformación que modifica las intensidades de los píxeles para obtener la imagen de salida. Debido a que el histograma se limita antes de calcular la función de distribución, la pendiente de la función de transformación se verá modificada al fijar el valor límite. Este valor está relacionado con la normalización del histograma, y por tanto depende del tamaño de la región. Esta técnica ha demostrado ser capaz de mejorar la detección de anomalías en mamografías.

2.2 Wavelets

El método implementado con la transformada *wavelet* se basa en el propuesto por Scharcanski y Jung [6]. Así, en una primera etapa se emplea la imagen original y otra imagen de contraste local obtenida a partir de la resta de la imagen original con dicha imagen tras aplicarle un filtro de media. Se divide el rango de grises de ambas imágenes en bins no solapables y se calcula una función de transferencia a partir del cociente de la desviación típica de los bins de la imagen original entre la desviación típica de dichos bins de la imagen de contraste local, resultado que se normaliza. Se calcula una función de ecualización como una función de distribución acumulativa de la función de transferencia normalizada, que se multiplica por la imagen original sin que haya valores de intensidad por debajo del mínimo original.

A la imagen resultado de la anterior etapa se le aplica la transformada *wavelet* discreta diádica, con diferentes familias, como la Biortogonal o la Daubechies, y sus respectivos órdenes para obtener los coeficientes de detalles en horizontal y vertical más los coeficientes de

aproximación. Se parte de la hipótesis de que los coeficientes de detalle se distribuyen según la suma de dos distribuciones: la gaussiana (valores bajos de coeficientes), relacionada con el ruido, y la laplaciana generalizada (valores altos de coeficientes), relacionada con los bordes. A partir de la maximización de la función suma de ambas distribuciones mediante el método *maximum likelihood estimation*, se calcula una función de reducción de ruido aplicando el teorema de Bayes; dicha función se multiplica por los coeficientes de detalle. Una vez actualizados los coeficientes, se reactualizan usando una función de realce mostrada en la ecuación 1.

$$h_{2j}^i(x) = \begin{cases} x - (G - 1) \cdot T_{2j}^i, & \text{si } x < -T_{2j}^i \\ Gx, & \text{si } |x| < T_{2j}^i \\ x + (G - 1) \cdot T_{2j}^i, & \text{si } x > T_{2j}^i \end{cases} \quad (1)$$

siendo x el valor de los coeficientes, G un parámetro de realce modificable y T_{2j}^i la mediana de los valores absolutos de los coeficientes en la escala indicada por el exponente j y en la subbanda i (coeficientes horizontales o verticales). La imagen final se obtiene aplicando la transformada *wavelet* inversa con los nuevos coeficientes de detalle y los coeficientes de aproximación.

2.3 Lógica Difusa

Finalmente, se han implementado tres métodos basados en el algoritmo de interpolación difusa Fuzzy ELA, tomando como referencia los trabajos presentados en [7] y [8], pero adaptados a imagen mamográfica e incluso ampliando las reglas difusas empleadas en el caso del último método. Los algoritmos implementados duplican la resolución de las imágenes, reducen el ruido y realzan algunas de sus características.

En primer lugar, se crea una imagen del doble de tamaño que la imagen original, con la información de ésta en las posiciones impares en ambas dimensiones e inicializada a cero en las demás. A continuación, a partir de unas reglas difusas preestablecidas y unas funciones de pertenencia gaussianas se obtienen valores difusos para cada píxel a interpolar. Dichos valores difusos se ponderan para cada situación mediante los operadores lógicos *min* y *prod*. Para terminar, se emplea el método de *fuzzy mean defuzzification* para obtener los valores de los píxeles finales.

Nuevas Reglas difusas	Causa	Consecuencia
1	a' grande, a grande, b grande, c medio y c' medio	(C + C' + D + D')/4
2	a' medio, a medio, b grande, c grande y c' grande	(A + A' + F + F')/4
3	a pequeño b grande c pequeño	(A + C + D + F)/4

Tabla 1: Reglas difusas propuestas

Respecto a los trabajos [7] y [8], se ha ampliado el número de reglas difusas de manera que modelen mejor la situación de la realidad que los píxeles intenten representar. De este modo, se pasó de las 6 reglas que empleaba el mejor método de la bibliografía a 9 reglas,

añadiendo las que se pueden encontrar en la Tabla 1. Después, se ponderan los valores difusos obtenidos multiplicando dichos valores difusos entre sí, aplicando el operador lógico *prod*. Se han escogido empíricamente las gaussianas que mejor se ajusten al caso de la mamografía.

3. Pruebas y resultados

3.1. Base de datos

Para la realización de las pruebas se ha empleado la base de datos pública Digital Database for Screening Mammography (DDSM) [9]. Esta base de datos proporciona un gran número de imágenes mamográficas, alrededor de 5000, así como información sobre qué tipo de patología esconden y marcas sobre su localización generadas por radiólogos expertos. Acorde a esto se distinguen cinco tipos de mamografías: imágenes con microcalcificaciones benignas, imágenes con masas benignas, imágenes con microcalcificaciones cancerosas, imágenes con masas cancerosas e imágenes con tejido sano. Dada la extensión de la base de datos, trabajar con la totalidad de las imágenes que contiene requiere un gasto computacional muy elevado y puesto que este es un trabajo experimental, se ha decidido utilizar un subconjunto reducido de la misma. Se ha establecido empíricamente que el número de imágenes utilizadas sea 50, 10 de cada tipo, como se hizo en [10].

3.2. Metodología y sistema de clasificación automática

A continuación, se explica el proceso seguido para obtener la clasificación a partir de las imágenes originales. Dentro de este proceso se distinguen 4 fases: el preprocesado, el procesado per se, la adaptación de las imágenes procesadas a los requisitos de entrada de la red neuronal convolucional (CNN) y la propia clasificación.

Primero, las imágenes se someten a una fase de preprocesado separando la mama del resto de la imagen. Esta fase es importante para que los procesos del sistema CAD no se vean influidos por la presencia de la etiqueta o por el ruido presente en el fondo. Para ello se crea una imagen binaria que contiene la silueta de la mama mediante operadores morfológicos de apertura, rellenando posteriormente huecos que hayan podido quedar en la región obtenida. Después se multiplica la imagen original por esta máscara de manera que se obtiene una imagen con el tejido mamario aislado. Tras el preprocesado se aplican los algoritmos de procesado expuestos en la sección 2 para realzar la imagen y aumentar su resolución.

Posteriormente se adaptan las imágenes a los requisitos de entrada del clasificador. La red neuronal está diseñada para trabajar con imágenes de 32x32 y requiere ser alimentada con imágenes ya etiquetadas que permitan aprender las características de cada tipo de imagen. Para separar los distintos tipos de tejido en primer lugar es necesario separar en las imágenes con patología el tejido sano del tejido enfermo. Esto se consigue aplicado las máscaras correspondientes al tejido dañado que ofrece la base de datos y que son fruto de las marcas realizadas por los radiólogos. Una vez separados los distintos tipos de tejido, los segmentos resultantes son divididos en

fragmentos de 32x32. En la figura 1 se aprecia el proceso de adaptación de las imágenes a los requisitos de la CNN.

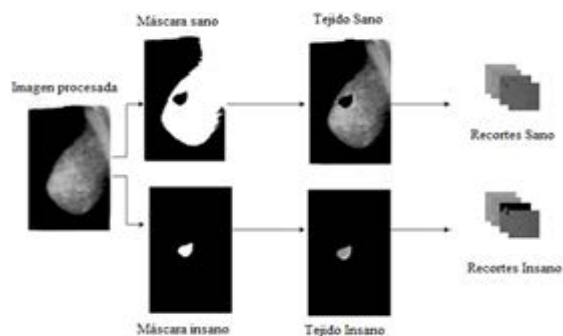


Figura 1. Adaptación de las imágenes a los requisitos de la red.

Para evitar resultados sesgados producidos por el entrenamiento de la red con un número muy dispar de imágenes de cada tipo es necesario balancearla, equilibrando el número de imágenes de los diferentes conjuntos de manera pseudoaleatoria.

Finalmente tiene lugar la etapa de clasificación. Para evaluar cuantitativamente el rendimiento de los algoritmos implementados se ha utilizado un clasificador basado en redes neuronales convolucionales, que forma parte de un sistema CAD propuesto en [10]. Los recortes se introducen en la red neuronal, que primero realiza la fase de aprendizaje, en la cual se determinan los parámetros necesarios para la clasificación y después la de evaluación, de donde se obtienen los resultados.

3.3 Resultados

3.3.1 Resultados cualitativos

A continuación, se muestra de forma visual un ejemplo de los resultados cualitativos obtenidos mediante los procesados propuestos a imágenes reales de mamografía.

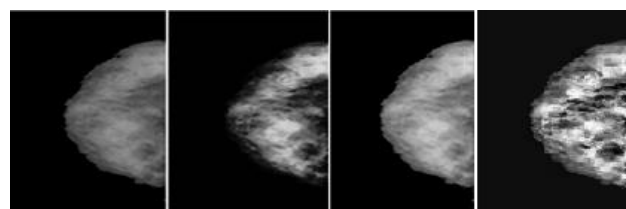


Figura 2. De izquierda a derecha, imagen original, imagen obtenida con wavelet, imagen obtenida con lógica difusa (doble de resolución) e imagen obtenida con CLAHE.

3.3.2 Resultados cuantitativos

Para obtener un resultado cuantitativo sobre la mejoría que aportan los procesamientos propuestos, se emplea el clasificador basado en CNNs. Para cada uno de los algoritmos se han implementado diferentes pruebas modificando diferentes parámetros en cada uno de ellos.

Para el algoritmo CLAHE se han llevado a cabo tres pruebas modificando los parámetros *tamaño de las regiones* y *valor límite*. En la primera prueba el tamaño de las regiones se fija en matrices de 8x8 y el valor límite en 0.01 mientras que en la segunda prueba el tamaño es de 3x3 y el valor límite se mantiene en 0.01. Por último, en la tercera prueba el tamaño se fija en matrices de 8x8 y se

modifica el valor límite a 0.05. Las precisiones totales obtenidas en cada una de las pruebas son 78%, 80% y 81% respectivamente.

Para *wavelets*, se han realizado pruebas para las familias Biortogonal 5.5, Daubechies 10, Coiflets 5 y Biortogonal 3.1, empleándose en todos los casos 5 bins y filtros de media 5x5. Las precisiones totales para cada familia son respectivamente 89%, 84%, 82% y 85%.

Por último, en el caso del procesamiento difuso, se han realizado pruebas con tres variantes del algoritmo Fuzzy ELA: Fuzzy ELA 3x3, 5x5 y la ampliación de este último con las reglas difusas propuestas en este trabajo. Los resultados en términos de precisión total para cada prueba fueron 89%, 90% y 91% respectivamente.

3.3.3 Comparativa de resultados

Se procede a comparar los resultados obtenidos en las anteriores pruebas con los de la prueba de referencia, prueba en la que las imágenes no son procesadas con los algoritmos de la sección 2. Se valora la precisión a nivel global y en tejido sano y el tiempo de computación. En los tres casos se mejora la clasificación entre 5 y 20%. Por ello, se ve que tanto el aumento del contraste como el aumento de la resolución arrojan buenos resultados en lo referente a la clasificación mediante la red neuronal.

La Tabla 2 muestra las precisiones individuales y totales para cada algoritmo obtenidas en la mejor de sus pruebas. Al centrarse en los métodos empleados, se aprecia como en líneas generales, los algoritmos de lógica difusa tienen mejores resultados, ya que consiguen una clasificación del 91% de precisión, aunque ésta se reduce mucho para tejido sano y por tanto aumenta el número de falsos positivos, y además el tiempo de computación es elevado.

Respecto al reconocimiento del tejido sano (reducción de falsos positivos), se ve en la Tabla 2 que el algoritmo basado en análisis *wavelet* obtiene los mejores resultados.

Para acabar, en el caso de CLAHE los resultados son mejores que en la prueba de referencia con un tiempo de computación mucho menor que en los otros algoritmos.

Precisión (%)	REFER.	CLAHE	L. DIFUSA	WAVELET
Cal. benignas	75	82	97	89
Masas benignas	79	85	96	94
Cal. malignas	83	80	94	89
Masas malignas	82	81	91	86
Tejido sano	56	76	79	85
TOTAL	75	81	91	89

Tabla 2: Precisiones por patología y totales de cada prueba

4. Conclusiones y líneas futuras

Se han preprocesado imágenes mamográficas para mejorar su contraste mediante lógica difusa y para mejorar su realce mediante CLAHE y transformada *wavelet*. Las imágenes obtenidas se adaptan a las necesidades de entrada de un clasificador de las mismas

que consiste en un sistema CAD basado en redes neuronales convolucionales, esto es, se separan los distintos tipos de tejido y se recorta cada segmento en imágenes del tamaño requerido por la red.

Se ha llevado a cabo un análisis de los resultados obtenidos. Por un lado, las técnicas de preprocesado consiguen ampliar los detalles patológicos y diferenciar las regiones de interés de las demás. Por otro lado, el preprocesado permite obtener resultados óptimos de clasificación de los tejidos mediante redes neuronales convolucionales, demostrándose así que el preprocesado puede ser muy importante en el uso de sistemas automáticos de diagnóstico de cáncer de mama.

Finalmente se propone la combinación de los métodos implementados en este trabajo para obtener mejores resultados en un futuro. De esta forma se pretende tomar los resultados obtenidos como base para la obtención de una herramienta eficiente que permita colaborar con los facultativos en la lucha contra el cáncer de mama.

Referencias

- [1] Las cifras del cáncer en España 2016, referencia web: http://www.seom.org/seomcms/images/stories/recursos/LAS_CI_FRAS_DEL_CANCER_EN_ESP_2016.pdf (Consulta:Septiembre 2016)
- [2] Cupples TE, Cunningham JE, Reynolds JC. Impact of Computer-Aided Detection in a Regional Screening Mammography Program. *American Journal of Roentgenology*, Volume 185, Number 4, October 2005.
- [3] Kurt B, Nabiyev VV, Turhan K. Medical images enhancement by using anisotropic filter and clahe. In *Innovations in Intelligent Systems and Applications (INISTA), 2012 International Symposium, IEEE*, pages 1–4, 2012.
- [4] Vicente Peña CJ. AHE (ecualización del histograma adaptativo), *Universidad Politécnica de Madrid*, 1998.
- [5] Pisano ED, Zong S, Hemminger BM, DeLuca M, Johnston RE, Muller K, Braeuning MP, Pizer SM. Contrast limited adaptive histogram equalization image processing to improve the detection of simulated spiculations in dense mammograms. *Journal of Digital imaging*, 11(4):193–200, 1998.
- [6] Scharcanski J, Jung CR. Denoising and enhancing digital mammographic images for visual screening. *Computerized Medical Imaging and Graphics*, 30, 243-254, 2006.
- [7] Brox P, Baturone I, Sánchez-Solano S, Barriga A. Image enlargement using Fuzzy ELA Algorithm. *Proc. Information Processing and Management of Uncertainty in Knowledge-based Systems (IPMU 2006)*, July 2-7 2006.
- [8] Souverville S, Rosales JA, Gallegos FJ, Dehesa M, Hernández IV, Lozano LV. Fuzzy Logic Applied to Improvement of Image Resolution using Gaussian Membership Functions Research. In *Computing Science*, 102, 77-88, 2015.
- [9] Heath M, Bowyer K, Kopans D, Moore R, Kegelmeyer WP. The Digital Database for Screening Mammography. In *Proceedings of the Fifth International Workshop on Digital Mammography*, Yaffe MJ, ed., 212-218, *Medical Physics Publishing*, 2001.
- [10] González-Bueno Puyal J. Desarrollo de una herramienta para la detección de tejidos anómalos en mamografías digitales mediante redes neuronales convolucionales. *Trabajo de Fin de Grado. Universidad Politécnica de Madrid*. 2015.

Validación preliminar de la aplicación Cliente/Servidor del software DeMILI para el diagnóstico de enfermedades del hígado

L. Bote Curiel¹, JB. Pagador¹, JL. Moyano García-Cuevas¹, LF. Sánchez-Peralta¹, AB. González², I. Núñez², S. Borreguero², J. Ampuero³, R. Gallego³, M. Romero³, R. Gavira Sáez⁴, JA. Granero Encinas⁴, R. Tinoco Carrillo⁴, J. Gregorio Pérez⁴, FM. Sánchez Margallo⁵

¹ Unidad de Bioingeniería y Tecnologías Sanitarias, Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España, {lbote,jbpagador,jmoyano,lfsanchez}@ccmijesususon.com

² Talemnology S.L., Sevilla, España, {abelengonzalez,nachonrufo,samuelborreguero}@talemnology.com

³ Unidad Intercentros de Aparato Digestivo, Hospitales Universitarios Virgen del Rocío - Virgen Macarena, IBIS y CIBERehd, Sevilla, España, {javi.ampuero,rociogallegoduran}@gmail.com, mromerogomez@us.es

⁴ Saga Consulting & Software Factory S.L., Sevilla, España, {ramon.gavira,jose.granero,raul.tinoco,jesus.gregorio}@sagasoluciones.com

⁵ Unidad de Laparoscopia, Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España, msanchez@ccmijesususon.com

Resumen

La esteatohepatitis no alcohólica es una enfermedad del hígado graso que puede evolucionar progresivamente a la fibrosis. Su diagnóstico se basa, actualmente, en una biopsia percutánea del hígado, es decir, una prueba invasiva, de alto coste y que dificulta el diagnóstico precoz de la enfermedad. Aunque han ido surgiendo pruebas mínimamente invasivas para el diagnóstico de ambas enfermedades, ninguna ofrece un diagnóstico simultáneo adecuado para ambas enfermedades. Por esta razón, surge el software DeMILI, que utiliza dos biomarcadores de imagen calculados a través de imágenes de resonancia magnética para dar un diagnóstico de esteatohepatitis no alcohólica y fibrosis. En este trabajo se presenta una arquitectura Cliente/Servidor del software DeMILI que hace presente varias ventajas como la centralización de los recursos, la escalabilidad, y la seguridad. Además, ya que el diagnóstico se hace en base a imágenes de resonancia magnética comunes en la mayoría de pruebas de hígado, no se necesita ningún equipo especial, y, gracias a la arquitectura Cliente/Servidor, este diagnóstico se puede llevar a cabo de forma remota desde cualquier ordenador que tenga instalado el cliente.

1. Introducción

Las enfermedades del hígado graso no alcohólico (NAFLD, por las siglas en inglés de *non-alcoholic fatty liver disease*) son enfermedades diagnosticadas cuando existe esteatosis en ausencia de consumo de alcohol, infección vírica o lesión del hígado relacionada con algún medicamento o proceso autoinmune [1].

Las NAFLD forman un grupo de enfermedades con un rango que van desde la acumulación hepática de grasa (esteatosis simple) hasta la esteatohepatitis no alcohólica (NASH, por las siglas en inglés de *non-alcoholic steatohepatitis*), que puede degenerar progresivamente en fibrosis, cirrosis y, en último momento, en carcinoma hepatocelular.

A día de hoy, la biopsia hepática percutánea es la prueba estándar para el diagnóstico tanto de NASH como de

fibrosis [2]. Sin embargo, limitaciones como su alto coste, morbilidad y errores de muestreo hacen que el diagnóstico sea difícil.

Por esto, se lleva investigando desde hace tiempo en el desarrollo de un método no invasivo para evaluar tanto NASH como la fibrosis. Se han desarrollado soluciones que solo detectan NASH (NashTest, métodos basado en Citoqueratina 18, etc.) o fibrosis (Fibrotest, Fibroindex, etc.), y otras que detectan ambas en la misma prueba. En este último grupo están las basadas en elastografía, como FibroScan, que han demostrado ser altamente fiables en el diagnóstico de la fibrosis, pero poco precisas para el diagnóstico de NASH [3]. También ha aparecido recientemente el software de diagnóstico DeMILI, el cual evalúa dos biomarcadores de imagen (NASHMRI y FibroMRI) adquiridos a través de imágenes tomadas por resonancia magnética (RMN), y da como resultado la probabilidad de que el paciente tenga NASH o fibrosis [4,5]. Aunque la información detallada sobre el cálculo de los biomarcadores está descrita en el trabajo de Gallego-Durán [4], el biomarcador NASHMRI utiliza las secuencias SSFSE-T2, DYNAMIC y FAST-STIR, mientras que el biomarcador FibroMRI utiliza DYNAMIC y SSFSE-T2. El cálculo de cada uno de ellos se realiza siguiendo las siguientes fórmulas:

$$\begin{aligned} \text{NASHMRI} &= 1/1 + e^{1.654 - 0.079 * E3(\text{SSFSE-T2}) - 0.127 * E57(\text{DYNAMIC}) * E73(\text{FAST-STIR})} \\ &\quad - 4.207 - 1.101 * E3(\text{DYNAMIC}) + 1.105 * E6(\text{DYNAMIC}) + 115.737 * E22(\text{SSFSE-T2}) \\ \text{Fibro - MRI} &= 1/1 + e^{-0.696 * E31(\text{DYNAMIC}) + 0.825 * E75(\text{DYNAMIC})} \end{aligned}$$

En este trabajo se presenta el desarrollo de una aplicación Cliente/Servidor basada en el software DeMILI. Esta arquitectura permite la utilización del cliente en cualquier ordenador Windows que se conecte con el servidor para procesar el estudio de RMN y diagnosticar las enfermedades de forma remota. La información del paciente y del estudio analizado, así como las imágenes

procesadas, quedan almacenadas en una base de datos y accesible a través de un sitio web.

2. Metodología

2.1. Características de la aplicación

La aplicación propuesta se ha diseñado siguiendo una arquitectura Cliente/Servidor (Figura 1). En el cliente se lleva a cabo el procesamiento de los estudios de RMN: selección de las secuencias, segmentación del hígado, selección de muestras y cálculo de los parámetros de imagen o estimadores. En el servidor se desarrollan los servicios web (*web services*) que calculan los dos biomarcadores de imagen (NASHMRI y FibroMRI), y que almacenan toda la información del paciente. Por último, toda esa información está accesible a través de un portal web.

La tecnología de programación utilizada para el desarrollo de la aplicación del cliente es el lenguaje y plataforma de MATLAB, mientras que los servicios web del servidor se han implementado con OpenCms usando la plantilla *Template SAGA*.

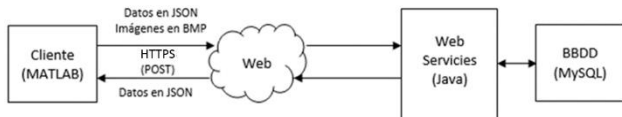


Figura 1. Diagrama Cliente/Servidor implementado en el software.

2.2. Comunicación Cliente/Servidor

La comunicación entre el cliente y el servidor se realiza mediante el protocolo HTTPS que intercambian datos en formato JSON. La comunicación comienza siempre desde el cliente, enviando los datos a través de peticiones POST. El servidor trata esos datos recibidos y responde al cliente con el estado dichos datos.

Además de esta comunicación, se produce un envío de imágenes desde el cliente al servidor a través del protocolo FTP para el almacenamiento de éstas.

2.3. Validación preliminar

Para conocer la opinión de utilidad y la facilidad de uso del sistema se ha realizado una encuesta a dos expertos, que consta de 4 preguntas (escala Lickert de 1-5). A continuación se enumeran las preguntas realizadas:

P1: Valore de 1 a 5 la utilidad de la aplicación para el diagnóstico del hígado graso (1-poco, 5-mucho).

P2: Valore de 1 a 5 la facilidad de uso de las siguientes funcionalidades de la aplicación (1-poco, 5-mucho):

- P2-1: Carga del estudio a analizar.
- P2-1: Selección de las secuencias de imágenes utilizadas para el diagnóstico.
- P2-1: Selección de las imágenes a segmentar.
- P2-1: Segmentación del hígado de las imágenes seleccionadas.
- P2-1: Selección de las muestras a analizar.

P3: Valore de 1 a 5 si el uso de la aplicación es intuitiva (1-poco, 5-mucho).

P4: Valore de 1 a 5 la carga de trabajo del usuario para el diagnóstico de un paciente (1-poco, 5-mucho).

3. Resultados

3.1. Funcionamiento del cliente

La aplicación cliente se encarga del procesamiento de los estudios de RMN. Está formada por una serie de ventanas que se van presentando de manera secuencial según se va realizando la tarea específica para cada una de ellas. Permite al usuario, en primer lugar, y tras un proceso de autenticación y carga del estudio de RMN, seleccionar las tres secuencias de imagen (SSFSE-T2, FAST-STIR y DYNAMIC) que el software DeMILI necesita para realizar el diagnóstico (Figura 2).

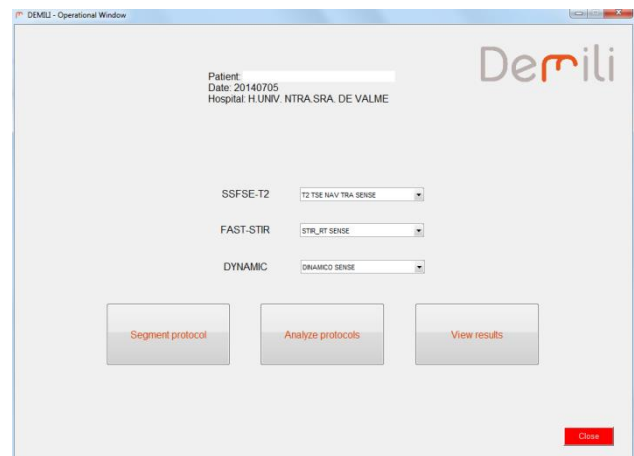


Figura 2. Ventana en la que se selecciona las secuencias SSFSE-T2, FAST-STIR y DYNAMIC.

El siguiente paso es seleccionar 6 cortes consecutivos de cada uno de los tres protocolos, tal como se muestra en la Figura 3. La selección de los cortes se hace de manera que estos tengan la mayor superficie de hígado posible.

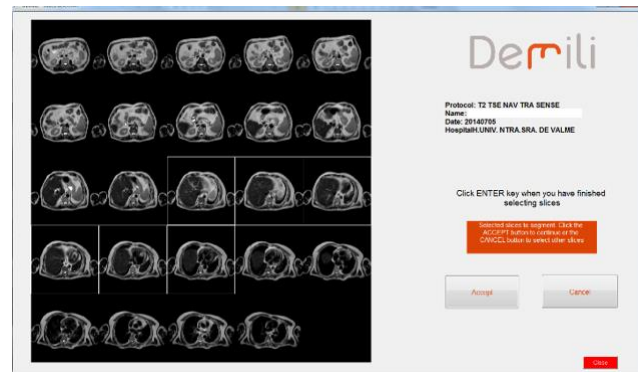


Figura 3. Ventana de selección de los seis cortes a procesar de cada protocolo.

Después de la selección de los cortes, se pasa a la segmentación del hígado. La segmentación es manual y se realiza creando un polígono alrededor de la superficie del hígado, como se muestra en la Figura 4.



Figura 4. Ventana de segmentación del hígado.

Una vez realizado este paso, se lleva a cabo la selección de las muestras sobre las que se calcularán los estimadores (Figura 5). El criterio a seguir para seleccionar las muestras es el de elegir aquellas que estén completas (parénquima hepático sin presencia de bordes) y sin artefactos (venas, ligamentos, etc.).

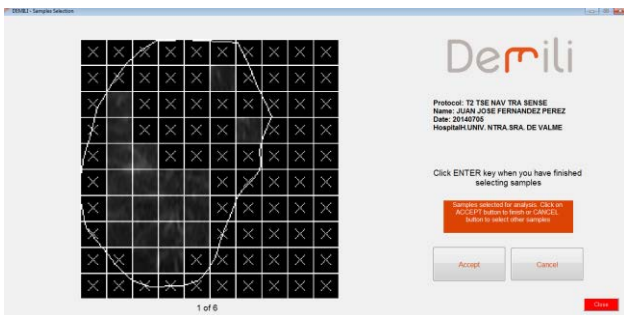


Figura 5. Ventana de selección de muestras.

Como paso final, el programa calcula los estimadores que es servidor utiliza para obtener los biomarcadores NASHMRI y FibroMRI. Estos biomarcadores son dos valores normalizados entre 0 y 1 que dan la probabilidad de tener enfermedad.

Todos los pasos descritos en este apartado se pueden observar de manera esquemática en el flujo de la aplicación de la Figura 6.

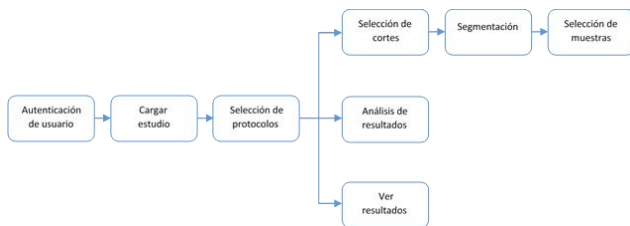


Figura 6. Flujo de la aplicación.

3.2. Funcionamiento del servidor y del portal web

En el servidor se implementan los servicios web que permiten la autenticación del usuario y el cálculo de los biomarcadores de imagen. Estos servicios interactúan con la base de datos, implementada en MySQL, y que almacena la información de cada usuario y los estudios de RMN analizados.

En el servidor también se implementa un servicio web que permite consultar la información más relevante de cada diagnóstico del paciente a través de un portal web. Este portal web muestra dicha información relativa a los estudios analizados, a los datos del paciente y al diagnóstico en sí, en un entorno amigable y de forma sencilla para el usuario (ver Figura 7).

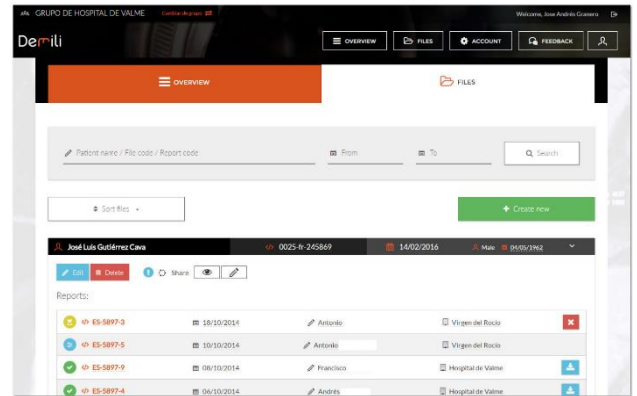


Figura 7. Área privada del portal web.

En concreto, esta información se compone de diferentes metadatos de los archivos DICOM procedentes de las secuencias de RMN (fecha y lugar de realización, paciente, edad, etc.), de la información generada por el cliente al procesar los estudios de RMN (secuencias analizadas, usuario que las realiza, segmentación realizada, muestras seleccionadas, etc.) y de los datos del diagnóstico de cada paciente realizados con dichos estudios.

3.3. Validación preliminar

Los resultados promedio obtenidos se muestran en la Figura 8:

Resultados de la validación

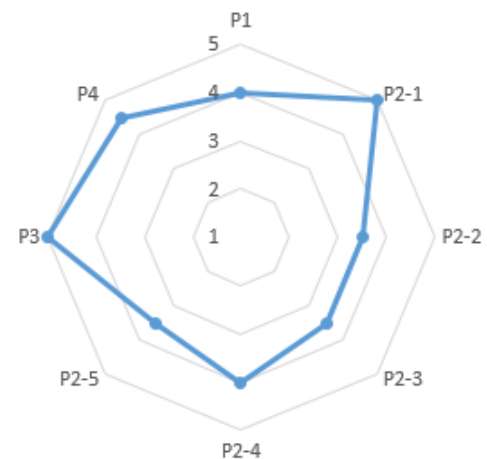


Figura 8. Resultados promedio de la validación de utilidad y facilidad de uso.

Se puede ver que la máxima puntuación se consigue en la valoración sobre la facilidad de carga de un estudio y lo intuitivo que resulta el uso de la aplicación. Sin embargo, los resultados más bajos se obtienen en la facilidad en la selección de las secuencias de imágenes utilizadas para el diagnóstico y en la selección de las imágenes a segmentar.

4. Discusión

La arquitectura Cliente/Servidor en la que se basa el software presentado permite tener ventajas como: la *centralización de los recursos*, de manera que las actualizaciones del algoritmo estarán inmediatamente disponibles a los usuario sin tener que reinstalar en su equipo; la *escalabilidad*, ya que los recursos necesarios dependerán únicamente del servidor y su asignación puede realizarse de forma completamente transparente al cliente; y la *seguridad y disponibilidad*, de forma que en caso de problemas con el ordenador cliente, todos los datos analizados están almacenados de forma cifrada y redundante por el servidor del sistema.

El principal inconveniente de esta arquitectura es que para realizar el diagnóstico se necesita una conexión permanente a internet.

Recientemente se han introducido en el mercado métodos de diagnóstico mínimamente invasivos para NASH y fibrosis que pretenden ser una alternativa a la biopsia percutánea.

Algunos de estos métodos diagnostican solamente NASH, por ejemplo NashTest que se basa en una fórmula propietaria de veinte variables (edad, género, masa corporal, triglicéridos, etc.) y que no presenta una buena sensibilidad [6]. Sin embargo, otros métodos basados en Citoqueratina (CK) 18 presentan mejores resultados tanto en sensibilidad como en especificidad [6].

Por otro lado, existen métodos que diagnostican únicamente fibrosis. Uno de ellos, Fibrotest, se basa en cinco marcadores de sangre y presenta muy buenos resultados en la identificación de cirrosis pero tiene peores resultados en el diagnóstico de fibrosis, ya que es altamente dependiente de los estados de la enfermedad. En contraposición, otro método llamado Fibroindex tiene una buena precisión en la predicción de fibrosis con un estado significativo [7].

Por último, los métodos conocidos que diagnostican ambas enfermedades son FibroScan y DeMILI. FibroScan es una solución que consiste en un equipo de elastografía propio con un software de diagnóstico para dicho equipo. Al tratarse de un método basado en ultrasonidos, es impreciso y muy dependiente del operador en el diagnóstico de NASH [8], aunque da buenos resultados para el diagnóstico de la fibrosis [7]. Por otro lado, DeMILI se basa en el análisis de imágenes de RMN. Al ser este tipo de imágenes comunes en estudios de enfermedades hepáticas, el diagnóstico se lleva a cabo sin necesidad de adquirir ningún equipo o realizar pruebas especiales.

En cuanto a los resultados obtenidos, se observa una dificultad de uso al seleccionar las secuencias de imágenes y al seleccionar las imágenes a segmentar.

La selección de las 3 secuencias se realiza a través de 3 menús desplegables, resultando el proceso un poco tedioso. Una solución planteada para esto puede ser la realización de la selección automática de secuencias por parte del software, de manera que el usuario queda liberado de esa tarea.

La selección de imágenes a segmentar presenta el problema de que las imágenes a seleccionar tienen un tamaño pequeño, provocando que el usuario no distinga bien unas de otras para seleccionar las mejores. Una posible solución sería la presentación de imágenes en estilo galería, presentando una tras otra en un tamaño mayor.

5. Conclusiones

Aunque existen métodos mínimamente invasivos para el diagnóstico de NASH y fibrosis, como FibroScan, su utilidad en el diagnóstico de ambas enfermedades a la vez aún es limitada. Sin embargo, los recientes resultados de DeMILI parecen mejorar la especificidad y sensibilidad previas. Por esta razón, se ha implementado la versión Cliente/Servidor del software, ya que permite, en base a imágenes de RMN comunes en la mayoría de pruebas hepáticas, un diagnóstico remoto desde cualquier ordenador que tenga instalado el cliente, sin necesidad de un equipo especial dedicado.

Agradecimientos

Ayuda GR15175. Junta de Extremadura. Fondos FEDER. Ayuda para la formación de Tecnólogos TE14111. Junta de Extremadura. Fondos FEDER.

Referencias

- [1] Chalasani N et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology*, vol 142, 2012, pp 1592–1609.
- [2] Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am. J. Gastroenterol*, vol 94, 1999, pp 2467–2474.
- [3] de Lédinghen V. et al. Diagnosis of liver fibrosis and cirrhosis using liver stiffness measurement: comparison between M and XL probe of Fibro Scan. *J. Hepatol*, vol 56, 2012, pp 833–839.
- [4] Gallego-Durán R, Cerro-Salido P, Gomez-Gonzalez E, Pareja M, Ampuero J, Rico M. et al. Imaging biomarkers for steatohepatitis and fibrosis detection in non-alcoholic fatty liver disease. *Sci. Rep.*, vol 6, 2016, no 31421.
- [5] Página web de la empresa Talemology, propietaria del software DeMILI. <http://www.talemology.com> (Consultada: Septiembre 2016).
- [6] Grandison GA, Angulo P. Can NASH be diagnosed, graded, and staged noninvasively? *Clin. Liver. Dis.*, vol 16, 2012, pp 567–585.
- [7] Martínez SM, Crespo G, Navasa M, Forns X. Noninvasive assessment of liver fibrosis. *Hepatology*, vol 53, 2011, pp 325–335.
- [8] Rinella ME et al. Controversies in the Diagnosis and Management of NAFLD and NASH. *Gastroenterology & Hepatology*, vol 10, iss 4, 2014, pp 219–227.

Modelo logit de regresión nominal para la detección de fibras de reticulina en histopatología

J.L. Espinosa-Aranda¹, I. Serrano¹, M.M. Fernández-Carrobles¹, I. Tadeo², R. Noguera², R. Burgos², G. Bueno¹

¹ Grupo VISILAB, Universidad de Castilla-La Mancha, Ciudad Real, España, {JoseL.Espinosa, Ismael.Serrano, MMilagro.fernandez, Gloria.Bueno}@uclm.es

² Departamento de Patología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de Valencia; Instituto de Investigación Sanitaria, INCLIVA, Valencia, España, Irene.tadeo@uv.es, Rosa.Noguera@uv.es, Reburpa@alumni.uv.es

Resumen

Las fibras de reticulina corresponden con una red 3D que se intercalan entre las células. Mediante la técnica de tinción de Gomori se aplica un nitrato de plata sobre la muestra, de esta forma las fibras de reticulina se tiñen de negro. La cuantificación de estas fibras es de interés en la homeostasis y arquitectura del tejido normal. Se propone un método probabilístico para la segmentación automática de las fibras de reticulina basado en logit de regresión nominal aplicado a la densidad óptica de las imágenes histopatológicas. La densidad óptica es calculada iterativamente, lo que permite realizar las fibras de reticulina teñidas. Posteriormente se aplica un modelo logit que calcula la probabilidad que tiene cada pixel de pertenecer o no a la estructura de fibras de reticulina en función de su topología, creando así un mapa de probabilidad para toda la imagen. Finalmente la curva ROC generada por el modelo obtiene un AUC de 0.9563 en la detección de fibras de reticulina.

1. Motivación

La matriz extracelular (MEC) es una red 3D de macromoléculas que se intercala entre las células, formando parte de varios tejidos y órganos. Está constituida por sustancia fundamental o amorfa y fibras (colágenas, reticulares y elásticas). Sus moléculas desempeñan diversas funciones de forma integrada con las células, vasos y terminales nerviosos, lo que otorga a la MEC la capacidad de formar un entramado dinámico tisular [1,2]. Dentro de la MEC, las fibras de reticulina, o fibras de colágeno tipo III, son fibras finas que forman redes ramificadas en varias localizaciones de nuestro organismo. Se encuentran principalmente formando parte de la membrana basal de tejidos epiteliales, de la lámina basal de células adiposas, células musculares y células de Schwann, en el estroma hepático y en el estroma de los tejidos y órganos hemolinfoides. Estas fibras tienen un diámetro menor de 2µm y no sólo mantienen la estructura física de las células, sino que también unen múltiples ligandos tales como otras proteínas de la MEC, factores de crecimiento, receptores de señalización, y moléculas de adhesión [3,4], jugando un papel importante en la adherencia celular y constituyendo un adecuado almacén esquelético para el soporte e interacción de células individuales y tejidos [5]. Aumenta su cantidad y/o se desorganizan en procesos como el envejecimiento, el estrés y en diversas condiciones patológicas incluidos múltiples tumores [6-8].

Para su análisis histológico, la técnica que se usa es la tinción de Gomori. Es una técnica que utiliza la reducción de nitrato de plata que se deposita sobre estructuras argirófilas, como las fibras de reticulina, tiñéndolas de color negro. El primer paso en la tinción consiste en una oxidación de los azúcares hexosa presente en las fibras de reticulina para producir aldehídos, esto sirve para amplificar la subsecuente tinción. El segundo paso es conocido por sensibilización, es básicamente una impregnación con una sal metálica que forma compuestos orgánico-metálicos con el tejido y luego este metal sensibilizado es reemplazado por la plata de la solución de nitrato de plata. Posteriormente, los tejidos son tratados con la solución de plata amoniacal. Normalmente, no hay cambios de color hasta que las secciones realmente se hayan reducido. Este proceso de reducción se denomina revelado, y las técnicas de plata-diamina requieren concentraciones variables de formaldehído como agente reductor. El último paso consiste en tonalizar los depósitos de plata visible mediante cloruro de oro, convirtiéndolos en depósitos de oro metálico y el color de los elementos argirófilos, como el de las fibras de reticulina, cambian de marrón a negro [9,10].

La cuantificación objetiva con técnicas de procesado de imagen de las fibras de reticulina es de interés puesto que este componente fibroso de la MEC, tiene un claro papel en la homeostasis y arquitectura del tejido normal [11]. Conocer los patrones morfológicos y topológicos de las fibras de reticulina ofrecería una mejor comprensión de su función en distintas patologías. Actualmente, el análisis por técnicas de imagen de las fibras de reticulina, permite una cuantificación del área teñida [12-16]. Sin embargo, se ha demostrado que no sólo es importante considerar la cantidad de área teñida de fibras, sino que características morfológicas y organizativas de las fibras de reticulina tienen relevancia para el pronóstico en los tumores pediátricos neuroblásticos [17]. La apropiada clasificación de la fibrosis reticular podría arrojar nuevas vías de enfoques terapéuticos en dichos tumores pediátricos, en patologías que implican fibrosis pulmonar, medular y hepática, así como en otras enfermedades neoplásicas.

2. Metodología

En esta sección se explicará la metodología que se ha llevado a cabo para la segmentación de las fibras de

reticulina, como paso previo a su caracterización morfológica.

2.1. Preprocesado

Con el fin de mejorar la segmentación del modelo que se explica a continuación, se ha realizado un preprocesado sobre las imágenes RGB de la base de datos. Se ha calculado iterativamente la densidad óptica de las imágenes con dos iteraciones (OD2).

El cálculo de la densidad óptica está basado en la ley de Lambert-Beer o ley de absorción de la longitud de onda del color por concentración de un componente de tinción, suscita interés al poder destacar los componentes con más concentración de una manera directa. Por lo tanto la transformada a tonalidad, saturación y densidad (HSD) es definida como la transformación del espacio de color RGB a HSD aplicada a los valores de densidad óptica como.

$$I(\lambda) = I_0 e^{-Ac(\lambda)} \quad (\text{Ec. 1})$$

Donde $I_0(\lambda)$ es la intensidad de la longitud de onda λ que pasa a través de la muestra, A es la cantidad de tinción por unidad de área de la muestra y $c(\lambda)$ es la fracción de la luz incidente en para la longitud de onda λ transmitida a través de la tinción.

Las imágenes representadas por el microscopio pertenecen al espacio de color RGB. La curva de sensibilidad para la adquisición de la imagen viene definida a través de la relación entre la luz incidente y la salida de señal eléctrica, la intensidad de la salida para cada canal viene dada por:

$$I_{ch} = \int_0^\infty S_{ch}(\lambda) I_0 e^{-Ac(\lambda)} \quad (\text{Ec. 2})$$

Donde S_{ch} es la sensibilidad del canal ch en la longitud de onda λ , y S_{ch} es:

$$S_{ch} = \begin{cases} 1 & \text{if } \lambda = \lambda_{ch} \\ 0 & \text{if } \lambda \neq \lambda_{ch} \end{cases} \quad (\text{Ec. 3})$$

La Ec. 2 puede ser simplificada, usando la ecuación anterior (Ec. 3).

$$I_{ch} = I_{0,ch} e^{-Ac_{ch}} \quad (\text{Ec. 4})$$

Donde $I_{0,ch}$ es la intensidad del canal ch cuando no hay tinción presente y c_{ch} es el coeficiente de absorción para $\lambda = \lambda_{ch}$

Por tanto, la densidad óptica de un canal D_{ch} es linealmente dependiente de la cantidad de tinción definida como la absorción de tinción del canal ch .

$$D_{ch} = -\ln\left(\frac{I_{ch}}{I_{0,ch}}\right) = Ac_{ch} \quad (\text{Ec. 5})$$

Una medida general para la densidad óptica puede ser descrita como:

$$D = \frac{D_R + D_G + D_B}{3} = \frac{A(c_R + c_G + c_B)}{3} \quad (\text{Ec. 6})$$

La densidad óptica es así proporcional a la tinción por unidad de área de la muestra. Se consigue así una representación lineal de la tinción. Si esto se aplica iterativamente los píxeles representativos de la tinción se puede llegar a separar en el espacio de color RGB. Esto se

ilustra en la Figura 1 y 2 para 1 y 2 iteraciones (OD1, OD2). Para más iteraciones la separación no fue significativa.



Figura 1. Comparación entre RGB (izquierda), OD1 (centro) y OD2 (derecha)

Figura 2 representa la distribución de los píxeles para cada canal en la imagen original, en OD1 y OD2. Se puede observar como los píxeles que corresponde con la reticulina (píxeles en rojo) se agrupan mejor en OD1 y ligeramente más en OD2. Esto provoca que el modelo que se explica a continuación obtenga mejores resultados a la hora de segmentar la reticulina.

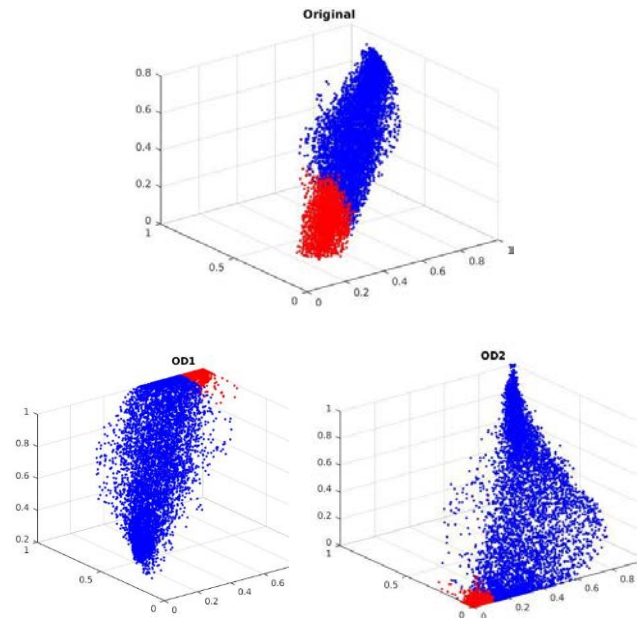


Figura 2. Distribución de píxeles para la imagen original en RGB (arriba), OD1 (abajo-izquierda) y OD2 (abajo-derecha)

2.2. Modelo

Para resolver el problema planteado en este trabajo se propone la utilización de un modelo logit de regresión nominal. Este modelo se utilizaría para calcular la probabilidad de que cada uno de los píxeles pertenezca o no a la reticulina, conformando así un mapa de probabilidad de toda la imagen. Una de las ventajas de este tipo de modelos es que, una vez estimados, es necesario poco tiempo computacional para aplicarlos en diferentes imágenes.

Estos modelos se definen de la siguiente forma:

$$\pi_i = Pr(Y_i = 1 | X_i = x_i) = \frac{\exp(\beta_0 + \beta_1 x_i)}{1 + \exp(\beta_0 + \beta_1 x_i)} \quad (\text{Ec. 7})$$

o

$$\begin{aligned} \text{logit}(\pi_i) &= \log\left(\frac{\pi_i}{1 - \pi_i}\right) \\ &= \beta_0 + \beta_1 x_i \\ &= \beta_0 + \beta_1 x_{i1} + \dots + \beta_k x_{ik} \end{aligned}$$

(Ec. 8)

Donde Y se corresponde con la variable de respuesta, $X = (X_1, X_2, \dots, X_k)$ son el conjunto de variables independientes, x_i son los valores observados para cada una de estas variables en una cierta observación i y β_i se corresponden con las variables que tienen que ser estimados del modelo.

Para estimar las variables β_i se utiliza el método de máxima verosimilitud. Con él se trata de encontrar los valores (β_0, β_i) que maximizen:

$$L(\beta_0, \beta_1) = \prod_{i=1}^N \pi_i^{y_i} (1 - \pi_i)^{n_i - y_i} = \prod_{i=1}^N \frac{\exp\{y_i(\beta_0 + \beta_1 x_i)\}}{1 + \exp(\beta_0 + \beta_1 x_i)}$$

(Ec. 9)

En este artículo se han considerado las siguientes variables independientes que el modelo tendrá en cuenta para estimar la probabilidad de que cada píxel forme parte de la reticulina:

- 1) X_1 : Valor del píxel en la primera componente OD2.
- 2) X_2 : Valor del píxel en la segunda componente OD2.
- 3) X_3 : Valor del píxel en la tercera componente OD2.
- 4) X_4 : Valor de la desviación estándar local del píxel en la primera componente OD2.
- 5) X_5 : Valor de la desviación estándar local del píxel en la segunda componente OD2.
- 6) X_6 : Valor de la desviación estándar local del píxel en la tercera componente OD2.

Como se puede observar, X_1, X_2 y X_3 se corresponden con los valores del píxel en el espacio de color OD2.

Además se trata de incluir dentro del modelo información topológica sobre la vecindad de la reticulina. Esto es debido a que, como se puede observar en la Figura 3 donde se muestra imágenes test en OD2, no hay zonas con un único píxel de reticulina, estando éstos o rodeados por otras zonas de reticulina o encontrándose en los bordes de estas zonas, con lo que en su vecindad dispondrían de reticulina al menos en algunos de sus laterales.

Por ello se incluyen los parámetros X_4, X_5 y X_6 en los que se utiliza el cálculo de la desviación estándar local de la imagen en cada canal, considerando una vecindad de 31x31 píxeles.

3. Experimentos

Para probar la funcionalidad del modelo se ha utilizado un conjunto de prueba de 5 imágenes test de las que se dispone el *ground truth* de reticulinas marcadas en rojo de manera similar a la Figura 3. El tamaño de cada una de ellas es de

1536x2048 píxeles (3145728 píxeles cada imagen). Con ellas se estimarán las variables β_i del modelo planteado.

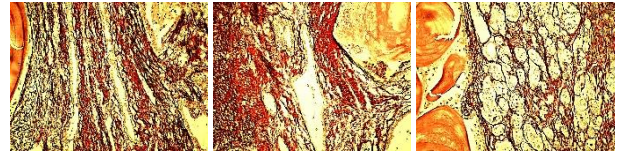


Figura 3. Imágenes test en OD2

El coste computacional para entrenar el modelo ha sido de unos 30 minutos en un ordenador con procesador Intel i7 2.3 GHz con 16GB de RAM.

Para cada uno de las variables β_i asociada a cada parámetro X_i , se obtienen los p-valores mostrados en la Tabla 1:

Parámetro	p-valor
$\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_4, \beta_6$	0
β_3	1,017e-128
β_5	1,569e-102

Tabla 1. p-valores por cada variable β_i

Por lo que considerando un p-valor umbral de 0,05 se puede concluir que todos los parámetros utilizados en el modelo son significativos para diferenciar la reticulina.

Al aplicar el modelo sobre cualquiera de las imágenes se obtiene el mapa de probabilidad completo de la misma. Para las imágenes utilizadas en este experimento se tarda aproximadamente 0,5 segundos en realizar el cálculo completo. Un ejemplo se puede ver en la Figura 4, representando cuanto más blanco una mayor probabilidad de ser reticulina.



Figura 4. Ejemplo de mapa de probabilidad

La curva ROC generada por el modelo puede verse en la Figura 5. El valor del área bajo la curva es 0,9563.

Finalmente para utilizar el modelo será necesario definir un determinado umbral para la probabilidad. Con este valor se indica a partir de qué valor se considera que se ha detectado reticulina dentro de la imagen. Por ejemplo, para un valor de 0,6 y aplicándolo a la Figura 4 la reticulina detectada es la mostrada en la Figura 6.a). En la Figura 6.b) se ilustra la segmentación manual o *ground truth* que ha permitido comparar los resultados obtenidos. Esta técnica se ha aplicado a más de 60 imágenes de fibras de reticulina.

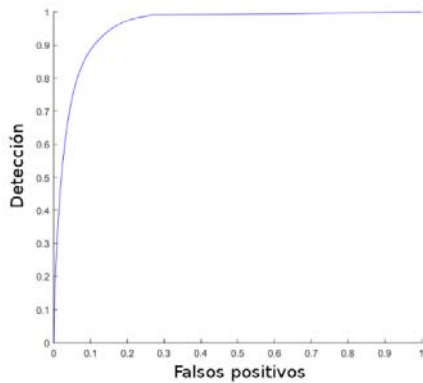


Figura 5. Curva ROC del modelo con un AUC= 0,956.

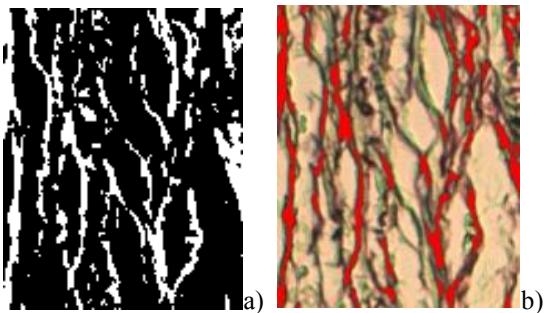


Figura 6. a) Reticulina detectada en blanco con $P > 0,6$, b) Ground Truth, reticulina marcada en rojo.

4. Conclusiones

En este trabajo se ha presentado un modelo probabilístico para la detección de fibras de reticulina en imágenes de histopatología. Para ello se ha utilizado un modelo logit en el que se utiliza la información del píxel y de su vecindad aplicado a la densidad óptica de las imágenes.

Los resultados muestran como este modelo es capaz de obtener buenos resultados para el problema planteado. También muestran como existen ciertos artefactos que podrían ser eliminados como trabajo futuro mediante técnicas de postprocesado de imagen o aplicación y análisis tridimensional del modelo implementado. Esto permitiría una representación 3D de las fibras.

Finalmente, como trabajo futuro se estudiará la utilización de otros parámetros dentro del modelo, así como la posibilidad de utilizar un modelo anidado para obtener mejores resultados.

Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación obtenida en el proyecto Europeo AIDPATH (num. 612471), que ha permitido desarrollar este trabajo <http://aidpath.eu/>. Se agradece las imágenes cedidas por la UV y el INCLIVA a través de sus proyectos PI14/01008 y Precipita 2015.

Referencias

[1] Humphrey, JD, Dufresne, ER, Schwartz, MA. Mechanotransduction and extracellular matrix homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15(12), pp 802-812.

[2] Mouw, JK, Ou, G, Weaver, VM. Extracellular matrix assembly: a multiscale deconstruction. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15(12), pp 771-785.

[3] Kim SH, Turnbull J, Guimond S. Extracellular matrix and cell signalling. The dynamic cooperation of integrin, proteoglycan and growth factor receptor. *J Endocrinol* 2011;209:139-51.

[4] Ushiki T. Collagen fibers, reticular fibers and elastic fibers. A comprehensive understanding from a morphological viewpoint. *Arch Histol Cytol* 2002;65:109-26.

[5] Fukuda T, Tsuneyoshi M. Adhesion proteins, cellular morphology and fibrous components around the cell/extracellular-matrix interface in myxoid liposarcomas. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000 ;126:320-4.

[6] Yu E, Lee I. Reticular network of the human thymus. *J Korean Med Sci* 1993; 8:431-6.

[7] Duregon E, Fassina A, Volante M, et al. The reticulin algorithm for adrenocortical tumor diagnosis: A multicentric validation study on 245 unpublished cases. *Am J Surg Pathol* 2013;37:1433-40.

[8] Vertemati M, Vizzotto L, Moscheni C, et al. A morphometric model to minimize subjectivity in the histological assessment of hepatocellular carcinoma and its precursors in cirrhosis. *Microsc Res Tech* 2008;71:606-13.

[9] Burck, HC. Técnica histológica. Manual para realizar preparaciones microscópicas en el laboratorio. Ed Paz Montalvo. Madrid, 1969

[10] García del Moral, R. Laboratorio de anatomía patológica. Ed Interamericana - McGraw-Hill. Madrid, 1993.

[11] Lowery, JL, Datta, N, Rutledge, GC. Effect of fiber diameter, pore size and seeding method on growth of human dermal fibroblasts in electrospun poly (epsilon-caprolactone) fibrous mats. *Biomaterials* 2010; 31, 491-504.

[12] Krajewska M, Smith LH, Rong J, et al. Image analysis algorithms for immunohistochemical assessment of cell death events and fibrosis in tissue sections. *J Histochem Cytochem* 2009; 57:649-63.

[13] Caballero T, Perez-Milena A, Masseroli M, et al. Liver fibrosis assessment with semiquantitative indexes and image analysis quantification in sustained responder and non-responder interferon-treated patients with chronic hepatitis c. *J Hepatol* 2001;34:740-7.

[14] Huss S, Schmitz J, Goltz D, et al. Development and evaluation of an open source delphi-based software for morphometric quantification of liver fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2010;3:10.

[15] Vertemati M, Moscheni C, Petrella D, et al. Morphometric analysis of hepatocellular nodular lesions in HCV cirrhosis. *Pathol Res Pract* 2012;208:240-4.

[16] Teman CJ, Wilson AR, Perkins SL, et al. Quantification of fibrosis and osteosclerosis in myeloproliferative neoplasms: A computer-assisted image study. *Leuk Res* 2010;34:871-6.

[17] Tadeo, I, Berbegall A.P, Castel V, et al. Extracellular matrix composition defines an ultra-high-risk group of neuroblastoma within the high-risk patient cohort. *British Journal of Cancer* 2016; 115, 480-489.

Diagnóstico Automático del HER2 con Deep Learning

A. Pedraza¹, I. Serrano¹, MM. Fernandez-Carrobles¹, M. García Rojo², L. González³, G. Bueno¹

¹VISILAB, E.T.S.I.I. UCLM, Ciudad Real, España, {Anibal.Pedraza, Ismael.Serrano, MMilagro.Fernandez, Gloria.Bueno}@uclm.es

²Hospital de Jerez de la Frontera, Cádiz, España, marcial@seis.es

³Hospital General Universitario, Ciudad Real, España, lmgonzalez@sescam.jccm.es

Resumen

Esta publicación presenta un método basado en deep learning para el diagnóstico automático del HER2 en imágenes de cáncer de mama. La tarea de automatizar la puntuación del HER2 tiene una significativa utilidad clínica, ya que reduce la subjetividad en el proceso de diagnóstico, así como la carga de trabajo de los patólogos. La principal idea del enfoque implementado es aprovecharse del potencial ofrecido por estas técnicas de aprendizaje automático y su capacidad para extraer características significativas. Como resultado, se estima la puntuación del HER2 junto a un porcentaje de confianza sobre la decisión tomada, aportando una comparativa entre los resultados ofrecidos por el algoritmo y la valoración realizada por una serie de patólogos para un conjunto de imágenes de prueba. El algoritmo proporciona una precisión del 95.62 % para un conjunto de 5750 muestras que pertenecen a 28 WSI (whole slide images).

1. Introducción

El gen codificado como HER2 (*Human Epidermal growth factor Receptor 2*) es un miembro de la familia de receptores del factor de crecimiento EGF/erbB, donde se incluyen los receptores del crecimiento epitelial [1-5]. Este gen codifica una proteína tirosina quinasa que aparece sobreexpresada en parte de los pacientes con cáncer de mama como parte del proceso de progresión tumoral [6-8], siendo este uno de los tipos de cáncer con más incidencia y mortalidad en Europa [9].

El análisis inmunohistoquímico (IHC) como *HercepTest*, *Bond Oracle Her2 IHC System* o *PATHWAY Her2* [10], nos permite determinar de una forma semicuantitativa la sobreexpresión de la proteína HER2 en tejidos mamarios cancerosos procesados rutinariamente para su evaluación histológica. Este ensayo interpreta la sobreexpresión a la proteína HER2 del tejido mamario canceroso mediante una puntuación dependiente del nivel de tinción que se obtenga [11], en muestras como la de la Figura 1. El criterio de puntuación o diagnóstico se establece en la Tabla 1.

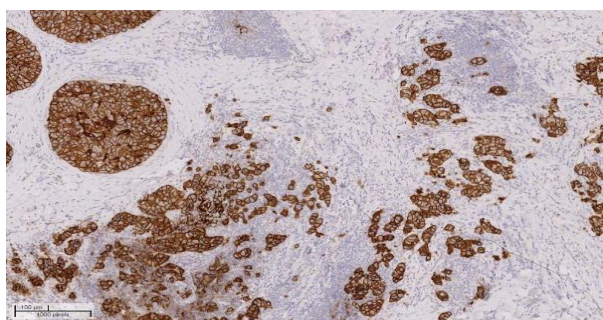


Figura 1. Muestra de ejemplo de tinción para HER2

Puntuación	Evaluación	Patrón
0+	Negativa	No se observa tinción, o la tinción de la membrana que se observa es menor al 10% de las células tumorales
1+	Negativa	Tinción débil o apenas imperceptible de la membrana en más de un 10% de las células tumorales
2+	Débil positiva (ambiguo)	De débil a moderada tinción de la membrana completa en más del 10% de las células tumorales
3+	Fuerte positiva	Fuerte tinción de la membrana completa en más de un 10% de las células tumorales

Tabla 1. Criterio de puntuación del HER2

Uno de los problemas principales a la hora de dar un diagnóstico de HER2 es la variabilidad que hay entre los patólogos [11], por tanto, se hace necesario implementar métodos automáticos que permitan clasificar y diagnosticar los casos de forma objetiva.

2. Material y método

A continuación se explica el proceso llevado a cabo y las técnicas implementadas en este trabajo para solventar el problema del diagnóstico del HER2.

2.1. Dataset

Para llevar a cabo el desarrollo del modelo y los experimentos, se dispone de un dataset compuesto por 100 WSI (whole slide images) del orden de 100.000 x 80.000 píxeles cada una. Empleando estas imágenes, se han extraído fragmentos de 68 x 68 píxeles representativos de las diferentes puntuaciones del HER2, junto a una clase adicional para el fondo. Esta última sirve para descartar rápidamente los artefactos más comunes presentes en este tipo de imágenes. Siguiendo este procedimiento, el conjunto de datos que se ha construido está compuesto por 1150 fragmentos por clase de media. El resultado final es un dataset con 5750 elementos. En la Figura 2 se puede observar cuál es la apariencia de cada una de las clases.

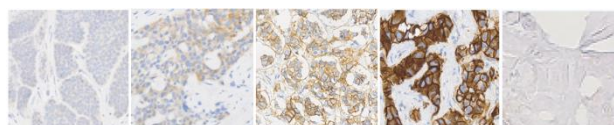


Figura 2. Representación de las clases del conjunto de datos. De izquierda a derecha: 0+, 1+, 2+, 3+, Fondo.

2.2. Entrenamiento

Partiendo del dataset anterior, se ha entrenado una Red Neuronal Convolutiva basada en la arquitectura *GoogLeNet* [12]. Como paso previo, los fragmentos fueron rescalados a un tamaño de 256 x 256 píxeles (por restricciones de la arquitectura). Los principales parámetros para el entrenamiento de esta red son:

- 50 épocas (número de veces que los datos son pasados a través de la red).
- Una tasa de aprendizaje inicial de 0.01
- Una política de aprendizaje basada en el descenso por pasos, empleando 0.1 como factor gamma y 16 como número de pasos.
- Descenso Estocástico del Gradiente como método de resolución [13].

Para desarrollar el modelo, se ha llevado a cabo un proceso de validación cruzada. Esto consiste en dividir aleatoriamente el conjunto de datos en k subconjuntos (denominados *folds*), asignándolos para su uso en entrenamiento, validación y pruebas. Este proceso se repite k veces, de manera que se obtienen k modelos, los cuales se pueden promediar para asegurar la robustez del método. En particular para este problema, se ha utilizado una validación cruzada de 10, asignando un fold para pruebas y validación y el resto para entrenamiento, por lo que la distribución de los datos para cada iteración es la siguiente:

- 80% de las imágenes para entrenamiento (4600)
- 10% de las imágenes para validación (575)
- 10% de las imágenes para pruebas (575)

La evolución del proceso de aprendizaje para una de las iteraciones puede observarse en la Figura 3.

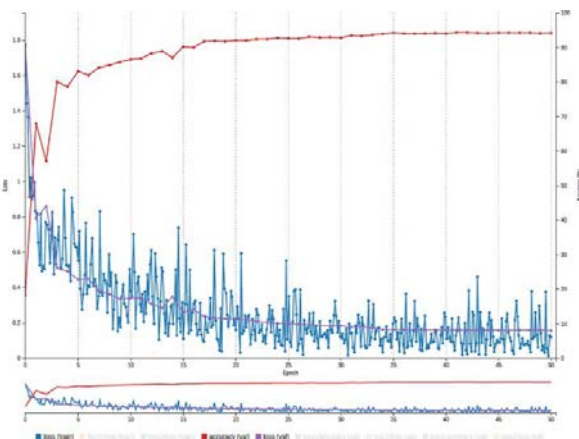


Figura 3. Proceso de aprendizaje de la red neuronal

Una vez entrenados los distintos modelos, es posible construir la matriz de confusión empleando todos los resultados obtenidos con los conjuntos de pruebas. Esta matriz (Tabla 2) muestra la relación entre la clase a la que pertenece cada elemento (filas) y la clase que ha predicho el modelo (columnas).

	0+	1+	2+	3+	Fondo
0+	922	87	1	0	40
1+	37	1193	21	0	0
2+	0	18	1003	13	0
3+	0	0	9	1151	0
Fondo	27	0	0	0	1228

Tabla 2. Resultados de test

A la vista de los resultados obtenidos en la matriz de confusión, la Tabla 3 establece la precisión en la predicción de cada una de las clases.

Puntuación	Precisión
0+	87.81 %
1+	95.36 %
2+	97.10 %
3+	99.22 %
Fondo	97.85 %

Tabla 3. Precisión en la puntuación de cada clase

La precisión general del modelo es del 95.62%.

2.3. Clasificación

Una vez que todos los fragmentos de una nueva imagen se han categorizado empleando el modelo desarrollado anteriormente, debe proporcionarse una puntuación para la imagen completa. Para inferir la puntuación de una imagen completa a partir de los distintos fragmentos se parte de la base de que asumimos que el cáncer de mama es heterogéneo en su expresión del HER2 [11], por lo que es posible encontrar zonas pertenecientes a diferentes clases.

La puntuación se lleva a cabo teniendo en cuenta la clase de expresión del HER2 con una mayor área, desde la Puntuación 3+ hasta la Puntuación 1+, siempre y cuando este porcentaje de aparición supere el 10%. El método proporciona tanto la puntuación sugerida como el porcentaje de confianza en dicha decisión.

3. Resultados

Para comprobar la eficacia del método y compararlo con una valoración real llevada a cabo por patólogos expertos, se llevó a cabo un estudio/encuesta, en el que doce patólogos evaluaron manualmente una serie de imágenes de prueba extraídas del conjunto de 100 imágenes mencionado anteriormente. Asimismo, estas imágenes se clasificaron empleando el método desarrollado. Los resultados obtenidos pueden observarse en la Tabla 4.

- Casos de éxito: marcados en color verde, se trata de las muestras donde hay un consenso entre el método de clasificación automático y la mayoría de los patólogos, siendo este porcentaje de al menos el 50%. A este grupo pertenecen 17 de las 28 muestras analizadas.
- Casos dudosos: resaltados en naranja, en ellos la variabilidad en la decisión de los patólogos es muy

alta, por lo que no es posible juzgar el resultado de estas muestras y se necesitarían pruebas adicionales para emitir un juicio. Esto ocurre en 5 de las 28 muestras.

- Casos erróneos: indicados en color rojo, se trata de aquellos casos en los que sí que hay una decisión mayoritaria por parte de los patólogos y esta no coincide con el resultado emitido por el algoritmo, algo que sucede en 6 de los 28 casos.

Muestra	Porcentaje de puntuación de los patólogos				Método
	0+	1+	2+	3+	
5	0 %	0 %	70 %	30 %	2+
7	0 %	80 %	0 %	20 %	1+
8	44 %	44 %	0 %	12 %	0+
10	0 %	0 %	80 %	20 %	2+
17	0 %	0 %	100 %	0 %	1+
20	0 %	0 %	0 %	100 %	3+
23	40 %	40 %	0 %	20 %	1+
37	0 %	50 %	25 %	25 %	1+
41	0 %	0 %	0 %	100 %	3+
42	0 %	0 %	75 %	25 %	2+
43	0 %	40 %	40 %	20 %	1+
44	0 %	0 %	20 %	80 %	2+
45	0 %	0 %	25 %	75 %	2+
51	0 %	0 %	0 %	100 %	3+
53	20 %	60 %	0 %	20 %	1+
54	0 %	0 %	0 %	100 %	3+
56	11 %	66 %	11 %	11 %	1+
59	0 %	0 %	60 %	40 %	2+
60	75 %	0 %	0 %	25 %	0+
62	25 %	50 %	0 %	25 %	1+
64	67 %	33 %	0 %	0 %	1+
69	0 %	0 %	80 %	20 %	1+
72	0 %	0 %	0 %	100 %	3+
75	0 %	25 %	75 %	0 %	1+
77	75 %	25 %	0 %	0 %	1+
78	100 %	0 %	0 %	0 %	0+
81	25 %	50 %	0 %	25 %	0+
85	75 %	0 %	0 %	25 %	0+

Tabla 4. Resultados de la comparación entre los patólogos y el algoritmo

A continuación se analizarán algunos de los casos más llamativos. Por ejemplo, entre los casos erróneos, únicamente en una ocasión (Muestra 17) hay unanimidad en la decisión tomada por los patólogos, lo cual, como se puede observar, es una situación inusual. Esta muestra se ilustra en la Figura 4.

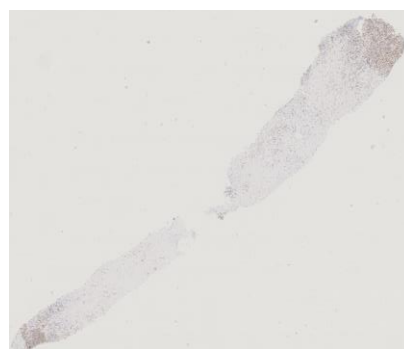


Figura 4. Muestra 17 del conjunto de datos

Como puede observarse, los extremos izquierdo y derecho de la muestra presentan tinción con puntuación 2+. Sin embargo, el resto del tejido es de tipo 1+. El problema aquí podría deberse a que los patólogos hayan considerado que esas regiones suponen al menos un 10 % de la muestra, mientras que el algoritmo no lo ha establecido así.

Otros dos casos que son dignos de mención son las muestras 8 (Figura 5) y 23 (Figura 6).

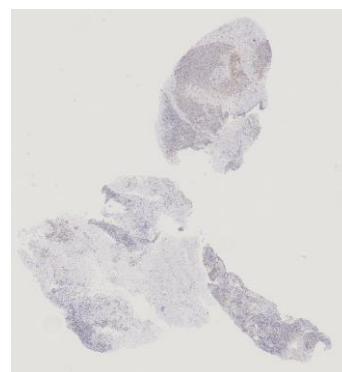


Figura 5. Muestra 8 del conjunto de datos

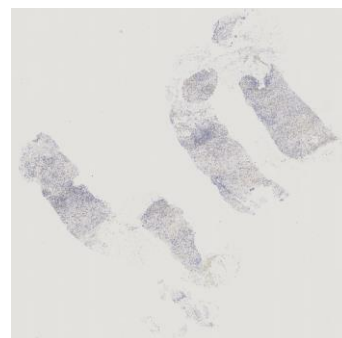


Figura 6. Muestra 23 del conjunto de datos

En estos casos, la variabilidad en la decisión de los patólogos es alta, pero lo más destacable es que esta oscila entre la puntuación 0+ y la 3+. A continuación se explican las consecuencias de esta situación.

Tal y como se indica en la introducción, una puntuación de 0+ o 1+ establece que la prueba es negativa; una puntuación de 2+, que es ambigua y se necesitarían realizar pruebas adicionales (por ejemplo, aplicar técnicas FISH (análisis por hibridación fluorescente in situ) además del análisis IHC [14]); por último, una puntuación de 3+ indica que la prueba es positiva y se puede comenzar el tratamiento.

Teniendo esto en cuenta, la confusión entre casos de 0+ y 1+ no tendría apenas influencia, ya que ambos son resultados negativos. En el caso de casos negativos diagnosticados como 2+, esto únicamente implicaría que se tendría que realizar una prueba adicional que retrasaría el diagnóstico, pero el resultado seguiría siendo el mismo. Sin embargo, si un patólogo puntúa una muestra como 2+ o 3+ cuando en realidad es negativa, no sólo se estaría retrasando el diagnóstico, sino que este sería incorrecto y podría comenzarse un agresivo tratamiento para un paciente al que no se le estaría indicado.

4. Conclusión

En esta publicación se ha presentado el método desarrollado para la puntuación automática del HER2, haciendo uso de avanzadas técnicas en visión por computador que están obteniendo grandes resultados en su aplicación en áreas muy heterogéneas. Este proceso cubre desde la creación del conjunto de datos hasta la validación del método con diagnósticos reales llevados a cabo por expertos.

Como se puede observar, el algoritmo concuerda con la decisión de los patólogos en la mayoría de las ocasiones. Además, también se desprende que, al ser esta evaluación muy subjetiva a la valoración de cada experto, los patólogos no siempre coinciden en su interpretación, por lo que a veces no solo es complicado evaluar si el algoritmo hace una interpretación correcta, sino que también cabe preguntarse por la decisión adoptada por los patólogos.

Por último, indicar que para poder desarrollar sistemas más complejos y precisos para el diagnóstico de este tipo de pruebas sería necesario contar con la colaboración de más patólogos que evaluaran y anotaran las muestras.

Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación obtenida en el proyecto Europeo FP7 AIDPATH (núm. 612471) y el proyecto nacional AQUALITAS (CTM2014-51907-C2-2-R) que han permitido desarrollar este trabajo.

Referencias

- [1] Holbro T, Hynes, NE. ErbB receptors: directing key signaling networks throughout life. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, vol 44, 2004, pp 195-217 (DOI: 10.1146/annurev.pharmtox.44.101802.121440).
- [2] Marmor MD, Skaria KB, Yarden Y. Signal transduction and oncogenesis by ErbB/HER receptors. *International Journal of Radiation Oncology * Biology * Physics*, vol 58, issue 3, 2004, pp 903-13 (DOI: 10.1016/j.ijrobp.2003.06.002).
- [3] Rowinsky, EK. The erbB family: targets for therapeutic development against cancer and therapeutic strategies using monoclonal antibodies and tyrosine kinase inhibitors. *Annual Review of Medicine*, vol 55, 2004, pp 433-57 (DOI: 10.1146/annurev.med.55.091902.104433).
- [4] Wiseman SM, Makretsov N, Nielsen TO, Gilks B, Yorida E, Cheang M, Turbin D, Gelmon K, Huntsman DG. Coexpression of the type 1 growth factor receptor family members HER-1, HER-2, and HER-3 has a synergistic negative prognostic effect on breast carcinoma survival. *Cancer*, vol 103, no 9, 2005, pp 1770-7 (DOI: 10.1002/cncr.20970).
- [5] Sundvall M, Iljin K, Kilpinen S, Sara H, Kallioniemi OP, Elenius K. Role of ErbB4 in breast cancer. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*, vol. 13, no 2, 2008, pp 259-68 (DOI: 10.1007/s10911-008-9079-3).
- [6] Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*, vol 235, issue 4785, 1987, pp 177-82 (DOI: 10.1126/science.3798106).
- [7] Goldhirsch A, Glick JH, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn HJ. Meeting highlights: international expert consensus on the primary therapy of early breast cancer 2005. *Annals of Oncology*, vol 16, no 10, 2005 1569-83 (DOI: 10.1093/annonc/mdi326).
- [8] Thuerlimann B, Koeberle D, Senn HJ. Guidelines for the adjuvant treatment of postmenopausal women with endocrine-responsive breast cancer: Past, present and future recommendations. *European Journal of Cancer*, vol 43, no 1, 2007, pp 46-52 (DOI: 10.1016/j.ejca.2006.09.003).
- [9] Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Annals of oncology*, vol 18, no 3, 2007, pp 581-92 (DOI: 10.1093/annonc/mdl498).
- [10] Taylor CR, Phill D, Rudbeck L. Education Guide: Immunohistochemical Staining Methods, Sixth Edition. Dako, 2013, p 135.
- [11] Concha A. Diagnóstico por Inmuhistoquímica de la Expresión de HER2 en Cáncer de Mama. Team Pharma, 2008 (ISBN: 978-84-612-7427-7).
- [12] Szegegy C, Liu W, Jia Y, Sermanet P, Reed S, Anguelov D, Erhan D, Vanhoucke V, Rabinovich A. Going deeper with convolutions. *Proceedings of the IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*, 2015, pp 1-9 (arXiv: 1409.4842v1).
- [13] Bottou L. Large-scale machine learning with stochastic gradient descent (*Proceedings in Computational Statistics*), Physica-Verlag, 2010, pp 177-86 (ISBN: 978-3-7908-2603-6).
- [14] Mass R, Press M, Anderson S, Slamon, D. Improved survival benefit from Herceptin (trastuzumab) and chemotherapy in patients selected by fluorescence in situ hybridization. *Breast Cancer Research and Treatment*, vol 69, no 3, 2001, p 213.

Método automático de análisis y segmentación de imágenes para la detección de nódulos pulmonares a partir de radiografías de tórax

J. Naranjo Alcázar¹, I. Bosch Roig², R. Sanz Requena³, S. Vázquez Martínez²

¹ ETSIT, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, janaal@teleco.upv.es

² Departamento de Comunicaciones, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, igbosroi@dcom.upv.es

³ Ingeniería Biomédica, Hospital Quirónsalud Valencia, Valencia, España, roberto.sanz@quironsalud.es

Resumen

El cáncer de pulmón es uno de los tipos de cáncer con mayor tasa de mortalidad, por lo que es necesaria la investigación en sistemas que permitan detectar la enfermedad de forma temprana y reducir la mortalidad de forma significativa. Por otro lado, la radiografía de tórax es una de las técnicas más habituales a la hora de evaluar el pulmón. Sin embargo, la utilización de esta prueba de forma masiva presenta una importante limitación: el volumen de trabajo de los servicios de radiología dificulta el análisis exhaustivo y personalizado de cada una de las radiografías. Por tanto, el objetivo planteado en este trabajo de investigación es el desarrollo de una metodología automática de análisis de imágenes que permita realizar un cribado de las radiografías, de forma que sólo lleguen al radiólogo aquellas imágenes con cierta probabilidad de presentar nódulos.

1. Motivación

La motivación de este proyecto surge ante las nuevas temáticas de investigación de automatización de procesos médicos, en concreto mediante el tratamiento de imágenes. Así pues, surge la posibilidad de automatizar la detección de posibles nódulos pulmonares para que los servicios de radiología de los hospitales tengan menos volumen de trabajo y que así sólo trabajen sobre casos que presentan alguna posibilidad de poseer algún tipo de lesión.

El objetivo de este proyecto es aplicar ciertas técnicas de procesado de imagen para poder segmentar las zonas de interés en cada momento, hasta finalmente obtener únicamente el nódulo. Con esta metodología se intenta investigar si dichas técnicas son de provecho en este problema o no. Para la comprobación de dicha metodología, se ha trabajado sobre 8 casos con diferentes características, como pueden ser el fabricante del equipo de adquisición, calidad de la imagen o colocación del nódulo.

2. Metodología

Se han desarrollado diferentes algoritmos de procesado de imagen en función de las características de los diversos casos de estudio, para finalmente implementar una algorítmica estándar que permita la detección de los nódulos de forma independiente a cada caso.

En primer lugar, para poder detectar el nódulo debemos separar la información o parte de la imagen que nos interesa del resto. En este caso, el objetivo será segmentar

los dos pulmones del resto de la imagen. Una vez tengamos los pulmones segmentados, podremos realizar un procesado para poder detectar el nódulo.

Así pues, la estrategia que se ha seguido para solucionar este problema es la segmentación de los pulmones basándonos en las intensidades de los píxeles.

2.1. Segmentación de los pulmones

En primer lugar el algoritmo extrae información del caso que este procesando. Hay que resaltar que se está trabajando con imágenes en formato DICOM, que es una estructura en la cual existe también información respecto al paciente, las condiciones de adquisición de la imagen, etc. La información relevante en nuestro caso es la relativa a la profundidad de bit, el equipo con el que se ha realizado la imagen y la distancia entre píxeles.

Para normalizar la imagen necesitamos la profundidad de bit y esta información la encontramos en la etiqueta *BitDepth* dentro de la estructura DICOM. Así pues, el primer procesado que realizamos sobre la imagen es su normalización, dividiéndola por su profundidad de bit. Así conseguiremos que el histograma se encuentre entre 0 y 1.

El siguiente paso es suavizar el histograma por si aparecieran picos no deseados reduciendo ruido. Para ello, se ha utilizado un filtro paso bajo (FPB) de media 3x3 para que el píxel en el cual se está aplicando el filtro obtenga el valor de la media de los píxeles que le rodea.

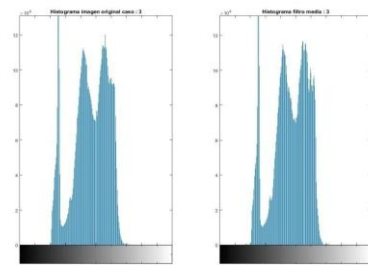


Figura 1. Comparación de los histogramas de un caso pre y post procesado con el FPB.

El histograma de este caso es el ideal, ya que podemos observar tres grandes máximos bien diferenciados. Cada uno de ellos corresponde a tres partes claramente separadas

en la radiografía que son: fondo (aire), pulmones y huesos y tejidos blandos. Esta propiedad se explotará mediante la separación de estas tres estructuras en *clusters* diferentes. La separación se aplicará por diferentes valores de intensidades. Esta separación de elementos se ha decidido realizarla de esta manera, ya que se ha observado en ciertos artículos la segmentación de estructuras observando los elementos que aparecen y el histograma de la imagen [1]. El método que se ha utilizado para la separación de la imagen en 3 clusters o grupos diferentes es *k-means*. Este método separa la imagen en diferentes clusters optimizado su nivel de intensidad [2]. También se utilizó la función *fuzzy c-means*, pero se descartó ya que el tiempo de computación requerido era superior y los clusters generados eran muy parecidos. Esta función nos devuelve el valor del cluster al que pertenece cada pixel. Los tres clusters que obtenemos son los mostrados en la Figura 2:

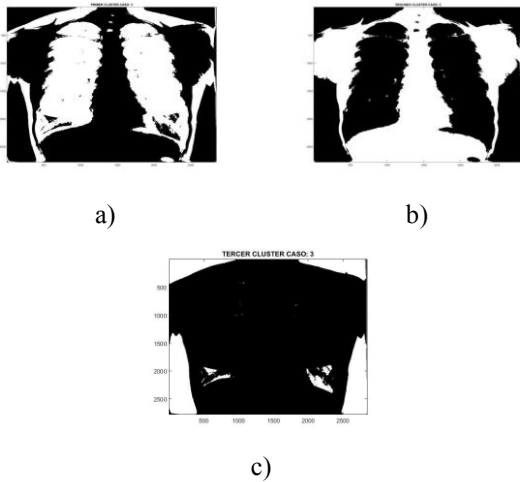


Figura 2. Segmentación del caso 3 a) Cluster 1, pulmones b) Cluster 2, huesos c) Cluster 3, fondo.

El siguiente objetivo es obtener el cluster de los pulmones de forma automática ya que, al ser una función de optimización, los clusters cambian de orden según la ejecución. Por lo tanto, el primer procesado que se realiza es una pequeña erosión para separar elementos de la imagen que quedan conectados en los clusters obtenidos. Por ejemplo, en ciertos casos, la intensidad de la región supraclavicular es muy parecida a la de los pulmones y dichos elementos aparecen en el mismo cluster. Así pues, realizamos este proceso para intentar separar ambos elementos. Posteriormente, se realiza una búsqueda de los centros de todas las estructuras presentes en la imagen para decidir qué centros pueden ser los de los pulmones según su posición. Así pues, se aplica un filtrado de área para eliminar todas las estructuras que presenten un área menor al pulmón, se comprobó en todos los casos el tamaño de los pulmones y el umbral se colocó en el más restrictivo. El siguiente paso será calcular los centros de las estructuras presentes en los tres clusters.

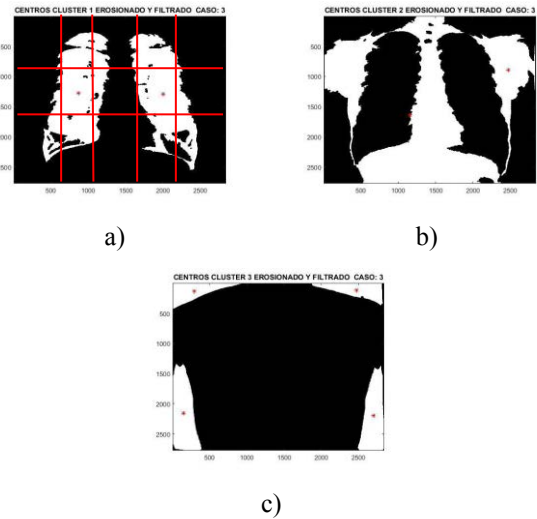


Figura 3. Centros tras la erosión y filtrado después de la segmentación del caso 3 a) Cluster 1, pulmones b) Cluster 2, huesos c) Cluster 3, fondo.

En la Figura 3, se puede apreciar cuál va a ser la tendencia de los centros de cada cluster. En el cluster 1 se pueden observar los centros de los pulmones (marcados con asteriscos rojos en la Figura 3 a)). Dichos centros se encuentran a la misma altura respecto el eje horizontal y aproximadamente a la misma distancia respecto a la mitad del eje vertical. Así pues, definimos unos márgenes en los cuales deberían encontrarse los centros de ambos pulmones. Estos márgenes se han representado en la Figura 3 a) mediante líneas rojas.

Una vez tenemos de forma lógica qué elemento corresponde a cada pulmón, debemos sumar ambas comprobaciones (pulmón izquierdo y derecho) y ver qué cluster tiene una suma de dos elementos, que corresponden a los dos pulmones. En caso de que exista más de un cluster seleccionado como el que posee los pulmones, se repite el proceso de los márgenes, pero de una forma más restrictiva, reduciendo los márgenes. Una vez sumados todos los elementos que se encuentran en dichos márgenes en cada cluster, tenemos que ver qué cluster tiene dos elementos (por eso la repetición del proceso si hay varios clusters que posean dos elementos que pudieran ser los pulmones).

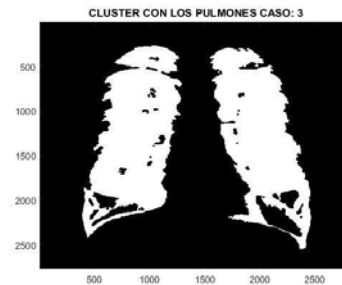


Figura 4. Cluster en el cual se encuentran los pulmones detectados de forma automática, caso 3.

Una vez se ha seleccionado el cluster de los pulmones, es necesaria la segmentación de los pulmones para su procesado (en el caso 3 no es necesario este proceso, ver Figura 4). Ahora que tenemos el cluster y las coordenadas

de los centros de los pulmones identificadas, es muy fácil quedarnos únicamente con los pulmones. Este proceso es fundamental, ya que pueden existir casos en los cuales el filtrado por área no elimine el resto de elementos distintos a los pulmones. En la Figura 5, se muestra el caso 4 en el cual detectamos el cluster de los pulmones satisfactoriamente, pero no segmentamos únicamente los pulmones (ver Figura 5 a)). Para eliminar dichos elementos en todos los casos, se calcula la distancia de cada uno de los elementos del cluster respecto a los centros de los pulmones. Como conocemos los centros de los pulmones gracias a los márgenes, imponemos la condición de que, únicamente, se quede con las estructuras que presenten distancia 0 a dichos centros. El resultado es el mostrado en la Figura 5 b).



Figura 5. Pulmones finalmente segmentados caso 4, procesado de centros y de relleno para recuperar información.

2.2. Procesado morfológico y segmentación del nódulo

Como se ha visto anteriormente, a la hora de segmentar los pulmones en el caso 3, no se perdía información relevante sobre los mismos. Sin embargo, como el algoritmo tiene que ser estándar para todos los casos, vamos a realizar un procesado morfológico tipo *close*, es decir, dilatar la imagen para luego erosionarla y así recuperar elementos que se han perdido a la hora de la segmentación de imagen. El objetivo de este procedimiento es la recuperación del nódulo en caso de pérdida de éste. En la Figura 6, se muestra la mejora en caso de que el nódulo se encuentre en el borde del pulmón (caso 4). A la izquierda, se pueden observar los pulmones segmentados sin el procesado morfológico y a la derecha tras dicho procesado. Se puede apreciar cómo conseguimos recuperar el nódulo y elementos que se perdieron tras la segmentación.

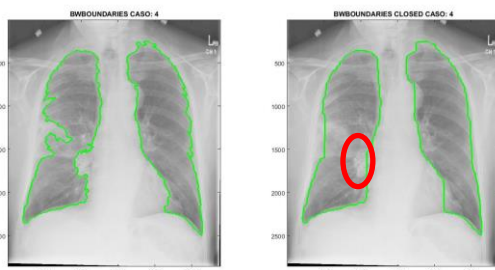


Figura 6. Pulmones segmentados pre y post procesado morfológico caso 4, el nódulo se encuentra resaltado con una elipse roja.

El siguiente paso tras el procesado de los pulmones es la separación de los diferentes elementos que aparecen en ellos. Lo que haremos será un clustering únicamente de los pulmones. El problema que tenemos ahora es que las intensidades que aparecen en los pulmones son muy parecidas, es decir, el histograma de los pulmones está muy concentrado en valores de intensidad similares. Por eso, estamos obligados a expandir y ajustar el histograma de los pulmones. Se ha decidido volver a utilizar *k-means*, pero en este caso que devuelva cinco clusters diferentes. Cada cluster está relacionado con los siguientes elementos: fondo de la imagen (también tiene que ser procesada), costillas, pulmón, ruido y nódulos. El proceso de optimización es el mismo que a la hora de segmentar los pulmones.

Una vez tenemos los elementos segmentados, debemos detectar de forma automática en qué cluster aparece el nódulo. Para ello, nos aprovecharemos del ajuste del histograma previamente realizado. Sabemos que los nódulos son elementos claros. Además, una vez expandido el histograma, forzamos a que el nódulo tenga una intensidad cercana al blanco. Por tanto, multiplicaremos cada cluster por la imagen de los pulmones con el histograma expandido y nos quedaremos con el cluster que presente la intensidad más clara. Una vez tenemos el cluster donde se encuentra el nódulo, vamos a eliminar aquellos elementos que no nos proporcionen información relevante. Para ello, eliminaremos todas las estructuras menores a 1 cm de diámetro (este margen viene definido por criterios médicos). Nuestro siguiente objetivo va a consistir en separar los bordes de los pulmones con los elementos que están en contacto con ellos, para así poder detectar los nódulos que se encuentran en la parte periférica del pulmón (caso 4, ver Figura 6). Podríamos calcular los dos mayores perímetros y eliminarlos, pero en ese caso podríamos estar perdiendo información referente al propio nódulo. Por lo tanto, vamos a realizar una pequeña erosión para poder separar los bordes de las estructuras contiguas.

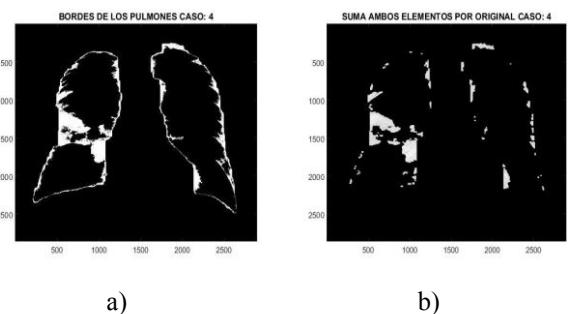


Figura 7. Detección borde de los pulmones caso 4, se aprecia cómo el nódulo se encuentra pegado a dichos bordes en la imagen de la izquierda. En la imagen de la derecha vemos como el nódulo es ya una estructura independiente.

Una vez ya tenemos los diferentes elementos por separados debemos buscar el nódulo. Para ello, lo primero que haremos será repetir el proceso de eliminación de elementos que poseen menos de un centímetro de diámetro. Lo que realizaremos sobre los elementos será un filtrado por forma y nos quedaremos con los elementos circulares (nódulos). El primer filtrado se realizará a partir de la

excentricidad (relación de eje mayor respecto eje menor) y de la solidez, propiedad que nos proporciona el cociente entre el área del casco convexo de los elementos y el área que poseen realmente [3]. Una vez que tenemos los posibles nódulos, vamos a utilizar otra propiedad que poseen los círculos para realizar un filtrado más exhaustivo. La propiedad que utilizaremos es la circularidad [4]. Por último, lo que se realiza es un cálculo de círculos mediante el algoritmo de Hough [5].

3. Resultados

En la siguiente tabla (Tabla 1) se detallan los resultados obtenidos en cada caso. Se puede observar la presencia de falsos positivos en casos con histogramas ruidosos o en los cuáles la segmentación de los pulmones no ha sido del todo satisfactoria. Por otro lado, la segmentación de los pulmones presenta resultados distintos, como la segmentación total, la pérdida del nódulo ya que se encuentra en la periferia o la adición de estructuras que no son el pulmón.

	Nódulo	Calidad imagen	Segmenta pulmones	Detecta nódulo
Caso 1	No	Histograma ruidoso	Sí, pérdida de información en un pulmón	Falso positivo
Caso 2	Sí	Histograma ruidoso	Sí, pérdida del nódulo	Detecta estructura diferente al nódulo
Caso 3	Sí	Buena	Sí	Sí
Caso 4	Sí	Buena	Sí	Sí
Caso 5	Sí	Colocación incorrecta del paciente	No	Falso negativo
Caso 6	No	Buena	Sí	No
Caso 7	Sí	Buena	Sí	Detecta estructura diferente al nódulo
Caso 8	No	Buena	Sí, incluye otras estructuras	Falso positivo

Tabla 1. Resultados obtenidos en los ocho casos trabajados.

En cuanto a los resultados obtenidos, podemos afirmar que la segmentación de los pulmones es una labor muy tediosa, ya que existen muchísimas variables que pueden modificar dicho examen. Entre estos factores, podemos destacar la radiación empleada (puede modificar la tonalidad de la imagen, es decir, el histograma), la colocación del paciente (pueden aparecer elementos no deseados, como la barbilla, entre otros), el fabricante del equipo (también puede modificar el histograma y que éste no sea suave) o si la imagen fue tomada en formato digital o fue escaneada, en este último caso, la imagen suele ser ruidosa. Por otro lado, en la detección de los nódulos, se han tenido que añadir ciertas consideraciones para detectar el mayor número de éstos, como la erosión de los bordes, en caso de que el nódulo estuviese en contacto con ellos (Figura 7), o el procesado de *close* morfológico necesario para poder

recuperar la información perdida tras la primera segmentación, ver Figura 6. Finalmente, para la selección del nódulo se ha decidido explotar la característica de la circularidad de éstos mediante tres criterios que comprueban dicha propiedad. En la Figura 8 se muestra la detección del nódulo en dos posiciones distintas del mismo (casos 3 y 4) y la no detección en un caso sano (caso 6).

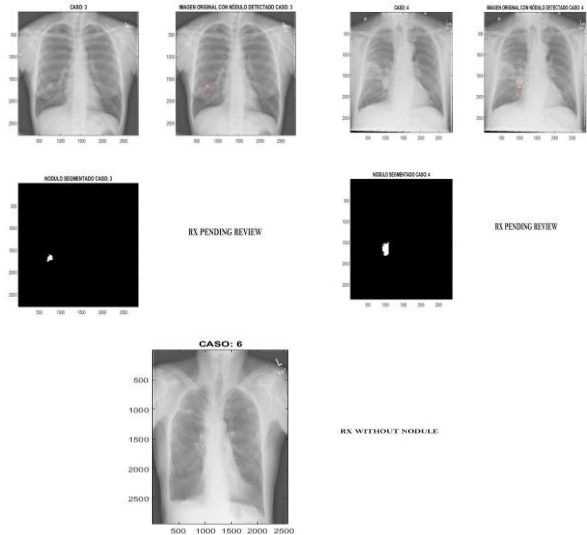


Figura 8. Resultados del algoritmo en tres casos, resueltos satisfactoriamente, caso 3 (nódulo rodeado de intensidades de grises, pulmón), caso 4 (nódulo en contacto con la columna) y caso 6 (sin nódulo, el algoritmo informa de que no existen nódulos)

4. Conclusiones

Como conclusión final, destacamos que el algoritmo diseñado es capaz de detectar nódulos correctamente en el caso de radiografías que cumplan una serie de características, como una buena colocación del paciente y una calidad de imagen mínima. Como principales líneas futuras, se plantean la independización de la metodología desarrollada de las diferentes características de calidad y la ampliación del número de estudios, para ir incorporando las singularidades de cada uno de ellos a la algorítmica desarrollada.

Referencias

- [1] Dolejsi M. Detection of Pulmonary Nodules from CT Scans, CZECH TECHNICAL UNIVERSITY, 2007.
- [2] Abdel-Maksoud E, Elmogy M, and Al-Awadi R. Brain tumor segmentation based on a hybrid clustering technique. *Egypt. Informatics J.*, vol 16, sup 1, 2015, pp 71–81 (ISSN: 1110-8665).
- [3] Horejš J. Shape Analysis Using Global Shape Measures. *Proceedings of the 18th Annual. Conf. Tech. Computing. Bratislava*, Bratislava, 2010, pp. 1–6 (ISBN 978-80-970519-0-7).
- [4] Hirota K, Rosin Paul L, and Žunić J, A Hu moment invariant as a shape circularity measure, *Pattern Recognition*, vol 40, 2009, pp. 1–26 (ISSN: 0031-3203).
- [5] D. H. Ballard and C. M. Brown, “Hough Method for Curve Detection.pdf,” *Computer Vision*. pp. 123–131.

Monitorización del cartílago tibial en pacientes con osteoartritis basada en estudios multiseuencia de RM

I. García Ocaña¹, B. Rodríguez-Vila^{1,2}, D.M. Pierce³, P. Sánchez-González^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España, {igarciao,brvila,psanchez}@gbt.tfo.upm.es

² Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina

³ Departments of Mechanical Engineering, Biomedical Engineering and Mathematics, University of Connecticut, Storrs, USA, david.pierce@uconn.edu

Resumen

La osteoartritis (OA) es una enfermedad degenerativa caracterizada por la pérdida de cartílago hialino en la articulación. Es una de las condiciones médicas más frecuentes y una causa importante de discapacidad en ancianos que genera altos costes. Esto hace necesario desarrollar nuevos marcadores diagnósticos que permitan identificar la enfermedad en sus estadios tempranos y aplicar tratamientos de forma eficaz. En este marco las técnicas de diagnóstico por imagen juegan un papel muy importante. Ciertas técnicas de resonancia magnética (RM), como el mapeo de T2, han demostrado una gran correlación con la composición del cartílago y con el nivel de degeneración de éste.

Este trabajo plantea una herramienta software que permite la medida y visualización de forma integrada del volumen del cartílago tibial así como el cálculo del tiempo de relajación T2.

Se han utilizado imágenes de RM de rodilla derecha de 10 pacientes de la OAI (Osteoarthritis Initiative) database. De cada paciente se han utilizado las imágenes de referencia (0 meses) y dos imágenes de seguimiento, a los 48 y 96 meses, para estudiar la evolución de la patología a lo largo de la monitorización.

Los resultados obtenidos demuestran que la segmentación obtenida por este método es aceptable en la mayoría de los casos, con un Target Overlap de 0.78 de media. En los mapas T2 se observa un aumento medio del 7.5% en los valores del tiempo de relajación T2 con la evolución de la patología, acorde con conclusiones de la literatura especializada.

1. Introducción

La osteoartritis (OA) es el tipo más frecuente de artrosis y afecta principalmente a la población anciana [1]. Se define como un cuadro de deficiencia y deterioro articular, cuyo principal signo patológico es la pérdida de cartílago hialino en la articulación, que al principio ocurre en zonas focales y de forma desordenada. Esto se acompaña de engrosamiento y esclerosis de la lámina subcondral, y con la aparición de osteofitos en el borde articular [1]. Además, ante el envejecimiento de la población y el aumento de la obesidad, se han observado aumentos de su prevalencia y se espera que sea aún mayor en el futuro [1].

En la práctica clínica, sólo se emplea con frecuencia para el diagnóstico de la OA la radiografía, que permite apreciar los signos radiológicos de la OA, pero no percibir la desaparición del cartílago ni otras manifestaciones tempranas de la enfermedad. Esto ha impulsado el

desarrollo de nuevas técnicas que permitan analizar el estado de degeneración del cartílago, empleando para ello imágenes de RM. Las principales técnicas que se están estudiando son *delayed gadolinium-enhanced MRI of cartilage*, *ultrashort echo time*, *GAG-specific chemical exchange saturation transfer*, MRI con sodio, mapeo de T1rho y mapeo de T2 [2].

En particular, el mapeo de T2 es una técnica basada en el cálculo del tiempo de relajación T2 en el cartílago a partir de imágenes de secuencia multieco Spin Echo (MESE). Trabajos previos han demostrado que el tiempo de relajación T2 es sensible a procesos de degeneración que ocurren en las primeras fases de la enfermedad, como la fragmentación de la matriz de colágeno o el incremento de agua en el cartílago ([3-4]).

Sin embargo, las imágenes MESE no tienen un buen contraste entre tejidos blandos, ni una resolución espacial que permita una delineación adecuada del cartílago [5]. Por otro lado, se acepta generalmente que la secuencia 3D *Double Echo Steady State* (3D-DESS) es la más adecuada para la morfometría cuantitativa del cartílago y como aquella que ofrece una mejor discriminación de éste respecto a las estructuras circundantes [5].

Segmentar el cartílago de la rodilla es un problema complejo ya que, aún en imágenes 3D-DESS, es fácil diferenciar hueso de cartílago pero no otros tejidos blandos. Además, en los pacientes con OA avanzada la capa de cartílago es muy delgada y el tejido no es homogéneo. Por eso el *golden standard* es la segmentación manual, pese a que es laboriosa, requiere mucho tiempo y tiene una gran variabilidad. Por otro lado, se han desarrollado métodos de segmentación automática o semiautomática, basados en bordes, en intensidad, en textura, métodos de aprendizaje automático, o métodos de registro [6].

En este trabajo se propone una metodología para la monitorización de la OA a lo largo del tiempo a partir de estudios multiseuencia de resonancia magnética de rodilla. Se enmarca en el contexto de la investigación del modelado biomecánico de la degeneración del cartílago de la rodilla, donde se utilizan los mapas T2 para extraer información geométrica y de composición del cartílago. Esta metodología se ha implementado en una aplicación software que permite, por un lado, obtener las

segmentaciones del cartílago tibial de forma automática usando métodos de registro; y por otro lado, la medida y mapeado del tiempo de relajación T2 en el cartílago tibial de la rodilla, permitiendo estudiar su evolución a lo largo de la monitorización del paciente.

2. Materiales y métodos.

2.1. Base de datos de pacientes

Se han seleccionado 10 pacientes con una diferencia significativa en el nivel de degeneración articular de la base de datos de la *Osteoarthritis Initiative* (OAI). OAI dispone de un estudio longitudinal de la OA de rodilla, multicentro, que incluye datos de evaluación clínica, radiológicos (MRI y rayos X) y biológicos de un repositorio de 4796 mujeres y hombres de entre 45 y 79 años. Para cada paciente se han realizado pruebas radiológicas al principio de la monitorización (*baseline*) y a los 12, 24, 36, 48, 72 y 96 meses, siguiendo el mismo protocolo de adquisición.

Para este trabajo se han seleccionado las imágenes de los periodos *baseline*, 48 meses y 96 meses. Además, se han utilizado únicamente las imágenes de las secuencias 3D-DESS y MESE.

Las imágenes de la secuencia 3D-DESS tienen unas dimensiones de 384x384x160 mm y una resolución espacial de 0.365x0.365x0.7 mm. Se trata de imágenes 3D potenciadas en T1 adquiridas con equipos Siemens de 3T. Esta secuencia permite la cuantificación del volumen de cartílago en toda la rodilla.

Las imágenes de la secuencia MESE están potenciadas en T2 y son necesarias para calcular el mapa de T2. Se trata de imágenes de secuencia multieco Spin Echo con siete tiempos de eco (TE) entre 10 y 70 ms. Tienen unas dimensiones de 384x384x23mm y una resolución espacial de 0.313x0.313x3.480 mm.

2.2. Esquema de trabajo

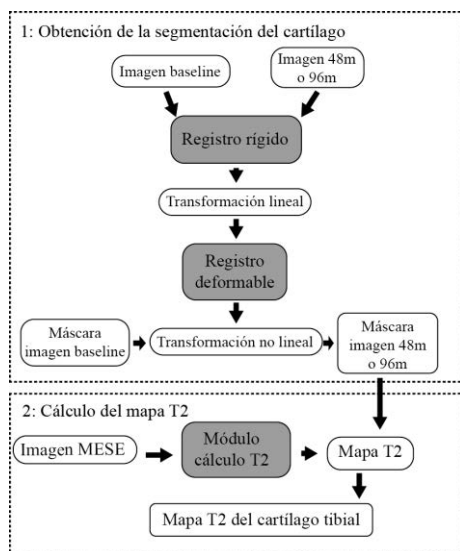


Figura 1. Esquema de trabajo.

Como puede verse en el esquema de la Figura 1, se distinguen dos etapas diferentes: (1) obtener la segmentación del cartílago aplicando métodos de registro y (2) calcular el mapa de T2. El resultado de la primera fase

es la máscara que se aplica al mapa de T2 obtenido en la segunda. Para cada paciente se realiza todo el proceso dos veces, con la imagen de 48m y con la imagen de 96m.

2.3. Métodos de registro de imágenes

Los métodos de registro de imagen nos permiten obtener de forma automática la segmentación del cartílago tibial en las imágenes de seguimiento (48 y 96 meses) a partir de la segmentación manual realizada sobre la imagen *baseline*.

Se trabaja con las imágenes de la secuencia 3D-DESS, puesto que presentan un mejor contraste entre el cartílago y las estructuras colindantes. Siempre se establece como imagen fija la imagen de seguimiento (48m o 96m) y como imagen móvil la imagen *baseline*. Tal y como aparece en el esquema (figura 1), primero se realiza un proceso de registro rígido para deshacer las traslaciones y rotaciones entre ambas imágenes. La transformación obtenida del mismo se utiliza como transformación inicial para el registro deformable, que es el que se encarga de modelar las pequeñas deformaciones ocurridas. La transformación no lineal resultante del registro deformable se aplica a la máscara del cartílago de la imagen *baseline* para obtener la máscara del cartílago de la imagen de seguimiento.

Se han utilizado dos métodos de registro deformable ampliamente testados en el estado del arte, concretamente registro basado en *bsplines* [7] y registro *demons* [8]. En el caso del registro *bsplines*, se ha seleccionado empíricamente un tamaño de rejilla fijo de 23x23x12 vóxeles, y como criterio de similitud la información mutua. Se ha utilizado el registro *demons* únicamente en aquellos casos (4 casos entre los 20 registros realizados, 20%) en los que el resultado con *bsplines* no era satisfactorio, al ser un método de mayor carga computacional.

2.4. Mapeo de T2

El tiempo de relajación T2 se mide de forma indirecta a partir de imágenes con secuencia MESE. Esta secuencia se compone de un pulso de 90° seguido de varios pulsos de 180°. El pulso de 90° tumba el vector de magnetización y comienza el desfase, mientras el pulso de 180° produce el refase de los espines que generarán una señal cuya amplitud depende del T2 del tejido. De este modo, se produce un muestreo de la curva de relajación T2. El tiempo T2 puede determinarse a partir de la función exponencial que pasa por los valores de máxima amplitud de los distintos ecos. La envolvente de la curva (S) viene dada por:

$$S_i(t) = e^{-\frac{TE_i}{T_2}} \quad (1)$$

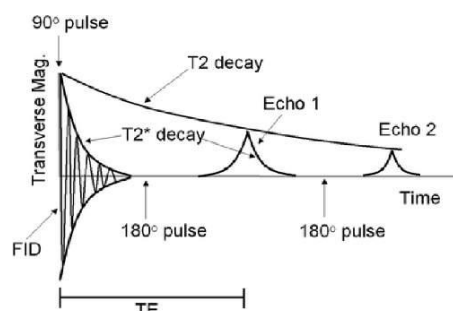


Figura 2. Ajuste de la curva exponencial de T2 a partir de la secuencia Spin Echo

Se trata por tanto de un problema de regresión exponencial en el cuál tenemos que ajustar una curva a los valores de amplitud registrados en cada TE (ver Figura 2), proceso que hay que realizar para cada píxel. Es problema costoso computacionalmente, y mayor cuanto mayor sea el tamaño de las imágenes.

Para realizar este cálculo de una manera más rápida, se puede utilizar una aproximación lineal aplicando logaritmos para linearizar la fórmula y una regresión lineal por mínimos cuadrados [9]:

$$T2 = - \frac{n \sum_1^n x_i^2 - (\sum_1^n x_i)^2}{n \sum_1^n x_i \ln y_i - \sum_1^n x_i \sum_1^n \ln y_i} \quad (2)$$

Los resultados obtenidos por esta aproximación pueden ser más sensibles al ruido y menos precisos que los que pueden obtenerse por regresión no lineal (mínimos cuadrados no lineales).

2.5. Desarrollo de la herramienta

La metodología propuesta se ha llevado a cabo sobre la herramienta open-source 3D Slicer [10]. Todos los procesos de la metodología pueden realizarse con la versión por defecto del software, exceptuando el cálculo de mapas T2. Para solucionar esto se implementado e integrado un módulo para el cálculo de mapas T2, que lee imágenes 3D multiteco (por lo tanto, 4D o 3D+t) y devuelve un único mapa 3D de tiempos de relajación. Este módulo está programado en C++ utilizando las librerías de Insight Toolkit. En concreto se ha utilizado la librería *MR Parameter Map Suite* [11], con el filtro *MRT2ParameterMap3DImageFilter*, que proporciona varios algoritmos de cálculo. En el módulo se han incluido dos opciones: lineal y no lineal (regresión no lineal por el método de Levenberg-Marquardt [11]).

3. Resultados

3.1. Evaluación de la segmentación

La calidad de la segmentación obtenida se calcula utilizando la segmentación manual como *golden standard*. Este proceso sólo se ha realizado únicamente para las 10 imágenes relativas a la revisión a los 96 meses. Para ello se han utilizado dos aproximaciones diferentes: (1) distancia Hausdorf, que calcula la distancia punto a punto entre los modelos 3D de las máscaras [12]; (2) coeficientes de similitud, que indican (con un valor entre 0 y 1) qué proporción de la máscara obtenida por métodos de registro se superpone con la obtenida manualmente [13]. Los coeficientes de similitud utilizados han sido:

- Índice de Jaccard:

$$JI(A, B) = \frac{A \cap B}{A \cup B}$$

- Coeficiente de Sørensen-Dice:

$$DICE(A, B) = \frac{2|A \cap B|}{|A| + |B|}$$

- Target Overlap:

$$TO(A, B) = \frac{A \cap B}{B}$$

Para la distancia Hausdorf, como media, los valores se hayan en el rango de -1.85 a 5.34 mm. La figura 3

representa la distribución de los valores de la métrica con un mapa de color para cuatro de los casos estudiados. Cabe destacar que en todos los pacientes predominan los valores comprendidos entre el mínimo y el cero (tonos azules) y que en muy pocos puntos se alcanzan los valores máximos (tonos rojizos), que sólo se dan en los bordes.

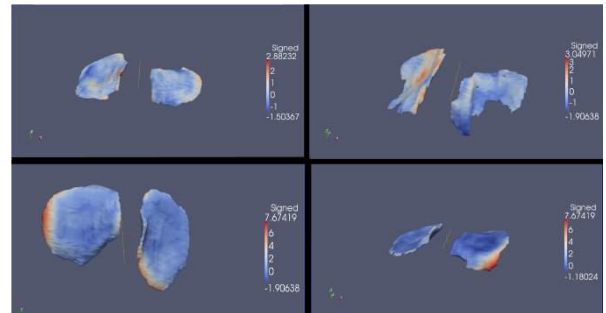


Figura 3. Resultados de la evaluación de la calidad de la segmentación para cuatro pacientes

En la tabla 1 se muestran los resultados obtenidos utilizando los distintos coeficientes de similitud. Para el índice de Jaccard se obtienen valores entre 0.38 y 0.70, siendo la media 0.59. Para el coeficiente de Dice, los valores son mayores, entre 0.62 y 0.75, con una media de 0.67, ya que es un índice menos restrictivo. Por último, los valores de TO están en el rango 0.66-0.82 y la media es 0.78.

OAI Id	JI	DICE	TO
9010952	0.615	0.688	0.781
9001897	0.707	0.755	0.811
9002817	0.382	0.511	0.771
9003380	0.582	0.652	0.740
9003406	0.599	0.686	0.803
9005321	0.586	0.623	0.666
9005413	0.650	0.728	0.827
9008322	0.615	0.688	0.781
9010370	0.598	0.687	0.808
9008884	0.636	0.707	0.795
Media	0.597	0.673	0.778

Tabla 1. Métricas de solapamiento

3.2. Evaluación de los mapas T2.

Se observa en la mayoría de los pacientes un aumento progresivo y moderado de los valores de T2 a lo largo de la monitorización. Los valores en el mes 96 son, para todos los pacientes mayores, que en el inicio.

Para analizar los datos se han excluido aquellos valores mayores que 100ms, al carecer de significado fisiológico. La presencia de estos valores inusualmente altos puede deberse a ruido y artefactos presentes en las imágenes o a una incorrecta segmentación del cartilago que haya llevado a incluir parte de hueso o líquido sinovial.

Se ha estudiado el valor medio de los píxeles en la zona segmentada (parámetro estándar en los mapas T2 del cartilago). El aumento medio en los valores de T2 entre el mapa *baseline* y el mapa a los 96 meses ha sido de 4.46ms. Estos resultados encajan con un aumento comprendido entre el 3% y el 12 %, diferencia que se ha encontrado en diversos estudios [4].

En la figura 4 se muestran a modo de ejemplo los mapas obtenidos para uno de los pacientes (con el cartilago ya segmentado).

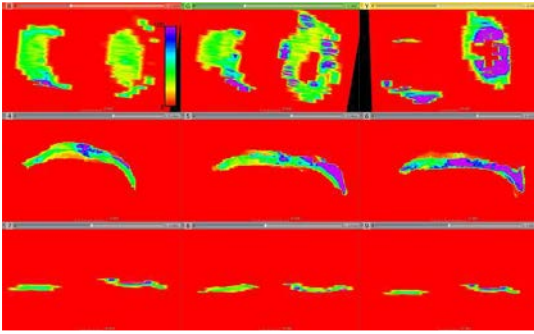


Figura 4. Mapas T2 del cartilago tibial de uno de los pacientes: corte axial (arriba), sagital (medio) y coronal (abajo). De izquierda a derecha: baseline, 48 meses y 96 meses.

4. Discusión

Por un lado, se ha visto por los valores de los coeficientes de similitud y los resultados de la distancia Hausdorff que puede obtenerse una segmentación aceptable del cartilago tibial utilizando métodos de registro de imágenes en la mayoría de los casos.

Aunque no hay limitación de tiempo en este proceso, a la hora de utilizar métodos de registro siempre es importante considerar el compromiso entre tiempo de computación y calidad de los resultados. La fase de registro rígido es la menos costosa (alrededor de 30 segundos). Se han probado dos de los métodos de registro deformable ofrecidos por *3DSlicer*, *bSplines* y *Demons*. Con el primer método, el tiempo de computación para dos imágenes de 384x384x160 vóxeles ha sido de alrededor de 1 minuto y medio. Con el segundo método, ha sido mayor (alrededor de 5 minutos). Ambos tiempos son mucho menores que los requeridos para la segmentación manual, que puede requerir alrededor de una hora.

En lo referente a los mapas T2, se han implementado dos algoritmos de cálculo: lineal y no lineal. El tiempo de cálculo no es excesivo para ninguno de los dos (el no lineal tarda un poco más, 16s). Como es un tiempo asumible, se ha utilizado éste. Se ha observado que los resultados coinciden con lo esperable (un aumento del tiempo T2 a lo largo de la evolución de la patología). Se ha comprobado que, tal y como se defiende en la literatura consultada, el tiempo T2 es un parámetro interesante para monitorizar el avance de la OA ya que aumenta con la degeneración del cartilago articular.

5. Conclusiones

En este documento se propone una metodología de trabajo para monitorizar la degeneración del cartilago tibial en pacientes de OA de rodilla a partir de imágenes de RM multisequencia. Por un lado, se propone el uso de métodos de registro de imágenes sobre imágenes 3D-DESS para el estudio de la evolución del volumen del cartilago. Por otro lado, el cálculo de mapas de relajación T2 en el cartilago como método de detección de procesos de degeneración tempranos. La metodología se desarrolló en la herramienta software *open-source* 3D Slicer.

Los resultados preliminares de la etapa de segmentación del cartilago tibial son prometedores, y se ha comprobado que los mapas T2 son una buena herramienta para monitorizar la evolución del cartilago en pacientes con OA. No obstante, de cara a trabajos futuros, serían necesarias diversas mejoras: aumentar la base de datos de pacientes para una mayor robustez de las conclusiones, evaluar otros algoritmos de registro deformable y realizar un análisis detallado de los mapas T2 (análisis laminar, análisis de textura, perfiles normalizados) para una mayor extracción de información de la imagen.

Referencias

- [1] Fauci y col. HARRISON. Principios de Medicina Interna. 17.ª ed. McGraw-Hill Interamericana de España, 2012.
- [2] PhD Edwin H.G. Oei MD y col. *Quantitative Radiological Imaging Techniques for Articular Cartilage Composition*. Arthritis Care and Research 77, 2013.
- [3] ScB Timothy C. Dunn y col. *T2 Relaxation Time of Cartilage at MR Imaging: Comparison with Severity of Knee Osteoarthritis*. Radiology 232.2, 2004.
- [4] D.C. Karampinos P.M. Jungmann T.M. Link J.S. Bauer T. Baum G.B. Joseph. *Cartilage and meniscal T2 relaxation time as non-invasive biomarker for knee osteoarthritis and cartilage repair procedures*. Osteoarthritis and Cartilage 21.21, 2013.
- [5] C. G. Peterfy , E. Schneider, M. Nevitt. *The osteoarthritis initiative: report on the design rationale for the magnetic resonance imaging protocol for the knee*. Osteoarthritis Cartilage. 2008 Dec; 16(12): 1433–1441.
- [6] M. S. Mallikarjuna Swamy y Mallikarjun S. Holi. *Knee Joint Articular Cartilage Segmentation, Visualization and Quantification using Image Processing Techniques: A Review*. International Journal of Computer Applications 42.19, 2012.
- [7] Rueckert D, Sonoda LI, Hayes C, Hill DL, Leach MO, Hawkes DJ. *Nonrigid registration using free-form deformations: application to breast MR images*. IEEE Trans Med Imaging. 1999 Aug;18(8):712-21.
- [8] Vercauteren T, Pennec X, Perchant A, Ayache N. *Diffeomorphic demons: efficient non-parametric image registration*. Neuroimage. 2009 Mar;45(1 Suppl):S61-72.
- [9] Jan Mikulka. *GPU-Accelerated Reconstruction of T2 Maps in Magnetic Resonance Imaging*. MEASUREMENT SCIENCE REV.
- [10] Fedorov A. y col. *3D Slicer as an Image Computing Platform for the Quantitative Imaging Network*, Magnetic Resonance Imaging, 2012.
- [11] Don C. Bigler y col. *MR Parameter Map Suite: ITK Classes for Calculating Magnetic Resonance T2 and T1 Parameter Maps*. Insight Journal 232, 2008. URL: <http://hdl.handle.net/1926/1381>.
- [12] Abdel Aziz Taha and Allan Hanbury. *Metrics for evaluating 3D medical image segmentation: analysis, selection, and tool*. BMC Medical Imaging. 2015; 15: 29
- [13] Rueckert D Bhatia KK Jenkinson M Hill DL Crum WR Camara O. *Generalised overlap measures for assessment of pairwise and groupwise image registration and segmentation*. Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention–MICCAI 2005, 99-10

Estudio mediante simulación del efecto de la hipocalemia e hipercalemia en la actividad eléctrica de cardiomiocitos y cardiomiocitos derivados de células madre

M. Gabaldón Sánchez¹, B. Trénor Gomis²

¹Universitat Politècnica de València, España, magasan3@etsii.upv.es

²Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (CI2B), Universitat Politècnica de València, España, btrenor@ci2b.upv.es

Resumen

Los ritmos anormales del corazón también conocidos como arritmias presentan una tasa de mortalidad muy elevada. Muchas de las arritmias se originan por un desequilibrio en la concentración extracelular de potasio ($[K^+]_o$). Este desorden electrolítico puede caracterizarse por una elevada concentración de potasio extracelular, efecto conocido como hipercalemia, o por el contrario una disminución de ésta o hipocalemia. El objetivo principal de este trabajo es analizar mediante modelado computacional los efectos de los cambios de $[K^+]_o$ en miocitos ventriculares humanos. Para ello, es necesario modificar el modelo de potencial de acción (PA) ventricular humano de O'Hara et al. (ORd). En segundo lugar se pretende determinar si los modelos de las células pluripotenciales inducidas (iPSC-CMs) suponen una herramienta válida para estudiar dichos efectos. La corriente rectificadora de potasio (I_{K1}) del modelo ORd ha sido sustituida por la formulación del modelo Grandi et al. (GPB) y escalada. Los resultados obtenidos demuestran que el modelo ORd modificado tiene un comportamiento similar al observado en los experimentos. La hipocalemia aumenta la duración del PA e hiperpolariza el potencial de reposo, además de reducir la corriente I_{K1} . Finalmente, las simulaciones realizadas nos permiten afirmar que el modelo hiPSC CM tiene un comportamiento similar ante variaciones de $[K^+]_o$ a los modelos de PA ventricular humano. De esta forma se confirma su aplicabilidad para analizar el comportamiento electrofisiológicos en el caso de la hipercalemia e hipocalemia. Se trata de una herramienta fundamental de apoyo para la evaluación de nuevas tecnologías in vitro.

1. Introducción

Las arritmias cardíacas son una importante causa de muerte en los países desarrollados. Según datos de la OMS, las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de muerte en todo el mundo [1]. En la actualidad numerosos esfuerzos se centran en el estudio de las arritmias ya que la tasa de mortalidad asociada a esta es muy elevada. El potasio (K^+) es el catión más abundante en el interior de la célula y las variaciones en su concentración se encuentran relacionadas con la aparición de arritmias [2]. La hipocalemia ($[K^+]_o < 5.4$ mmol/L) es la anormalidad electrolítica más común observada en la práctica clínica. Valores de potasio menores de 3.6 mmol/L se observan en más del 20% de los pacientes hospitalizados. La hipercalemia es un desorden electrolítico menos común aunque a pesar de esto afecta a un 8% de los pacientes hospitalizados en

Estados Unidos. La hipercalemia se observa principalmente en pacientes con enfermedades que comprometen la función renal [2]. Teniendo en cuenta que la mayoría de las arritmias se producen por un desequilibrio en estas concentraciones, se hace imprescindible el estudio de la actividad eléctrica del corazón en condiciones de hipercalemia e hipocalemia y en consecuencia el desarrollo de este trabajo.

Además, las simulaciones por computador juegan un papel fundamental en el estudio de las patologías cardíacas [3]. Junto con experimentos in vitro utilizando cardiomiocitos derivados de células madre pluripotentes inducidas (iPSC-CMs), éstas suponen una gran ayuda para el diseño de fármacos y para el análisis de patologías cardíacas [4]. Las células madre pluripotentes, o iPSC ("induced Pluripotent Stem") son células capaces de generar la mayoría de los tejidos. Derivan de forma artificial de una célula adulta diferenciada que es tratada para que se re programe mediante el uso de factores de crecimiento entre otros [5]. Estas células evitan los problemas éticos que derivaban del uso de las células madre embrionarias y permiten la aparición de cardiomiocitos derivados de células madre pluripotentes inducidos.

La experimentación con iPSC-CMs tiene una importancia vital en este tipo de estudios ya que el acceso a las células cardíacas humanas no es trivial [6]. Este tipo de células madre crea una gran vía para la investigación con una importante aplicabilidad futura por lo que serán objeto de estudio en el desarrollo del presente trabajo condiciones de desequilibrio de la concentración de potasio.

2. Métodos

Los modelos computacionales son fundamentales como herramientas de apoyo para la investigación clínica y experimental en las tecnologías sanitarias. Ha supuesto un gran avance la existencia de modelos capaces de simular el potencial de acción (PA) humano ventricular para reproducir los comportamientos fisiológicos y con ello los mecanismos que derivan en arritmias cardíacas.

Los modelos de potencial de acción empleados en el presente trabajo, así como los protocolos de estimulación se describen a continuación. Para la simulación del

comportamiento de las células miocárdicas se han empleado el modelo celular de PA ventricular humano desarrollado por O'Hara et al. [7] (ORd) y el modelo Grandi et al. [8] (GPB). Estos modelos son los modelos de PA humano más actuales y completos, basados en datos experimentales recientes.

Además de realizar las simulaciones con el modelo ORd y con el modelo de GPB, se han realizado un tercer conjunto de simulaciones usando una combinación de ambos modelos. En efecto, en el modelo de ORd se ha sustituido una de sus corrientes, en concreto la corriente rectificadora de potasio (I_{K1}) descrita en la ecuación 1, por la formulación de esta corriente en el modelo de GPB descrita en la ecuación 2.

$$I_{K1} = G_{K1} \cdot \sqrt{[K^+]_o} \cdot x_{K1} \cdot R_{K1} \cdot (V - E_K) \quad (1)$$

$$I_{K1} = 0.35 \cdot K1_{SS} \cdot \sqrt{\frac{[K^+]_o}{5.4}} \cdot (V_m - E_K) \quad (2)$$

Este cambio se ha realizado porque se observó que el comportamiento de la I_{K1} formulada en el modelo ORd ante variaciones de potasio no era adecuado. Un aumento de $[K^+]_o$, experimentalmente [9] y en el modelo GPB, conduce a un aumento de la I_{K1} , lo cual no sucedía con la formulación original de ORd, como se observa en el panel A de la Figura 1.

La corriente del modelo GPB introducida al modelo original de ORd se ha escalado, de forma que la corriente definitiva que aparece es la que observamos en la ecuación 3.

$$I_{K1} = 0.515 \cdot 0.35 \cdot K1_{SS} \cdot \sqrt{\frac{[K^+]_o}{5.4}} \cdot (V_m - E_K) \quad (3)$$

Para llegar a la I_{K1} final, el término para escalar es 0.515, de forma que la corriente es similar a la del modelo de ORd con el objetivo de que el resto de ecuaciones y/o parámetros del modelo que dependen de dicha corriente no se vean afectados de forma brusca.

El protocolo de estimulación para llevar a cabo este ajuste fue un protocolo de fijación de voltaje (*voltage clamp*) fundamentado en el mantenimiento del voltaje de membrana constante, mientras que se mide la corriente transmembrana necesaria para mantener dicho voltaje en el valor establecido. En definitiva, la técnica de *voltage clamp* permite medir corrientes iónicas a diferentes potenciales en el rango de concentración de potasio usado en este proyecto.

Además, se ha utilizado el Modelo Paci et al. [10] (hiPSC) caracterizado por reproducir los potenciales de acción espontáneos tanto ventriculares como auriculares de las células madre pluripotentes inducidas. Las simulaciones en este modelo se pueden llevar a cabo de forma espontánea o tal y como se ha realizado en este trabajo mediante estimulación seleccionando la frecuencia deseada (1 Hz).

Los valores con los que se ha realizado se ha trabajado

en este proyecto de la $[K^+]_o$ son 8 mM, 5.4 mM, 4.2 mM y 3.5 mM. Se trata de un rango de valores habitual en los estudios de esta índole ya que permiten abarcar desde un estado de hipercalemia, pasando por un estado de normalidad, hasta la hipocalemia. En las simulaciones llevadas a cabo con los modelos de ORd y GPB a distintos valores de $[K^+]_o$, se ha estimulado la célula a una frecuencia de 1 Hz durante un número de pulsos suficiente para alcanzar el estado estacionario.

3. Resultados y discusión

Tras realizar las simulaciones con los diferentes modelos presentados se observan los resultados en las siguientes figuras.

La Figura 1 representa las curvas I_{K1} -V obtenidas tras los experimentos de *voltage clamp*. Podemos afirmar que la I_{K1} del modelo ORd disminuye con el aumento del $[K^+]_o$ tal como se observa en la Figura 1(A). En el modelo de ORd con la I_{K1} de GPB escalada ocurre a la inversa, aumenta la I_{K1} con el aumento del $[K^+]_o$, tal y como se representa en la Figura 1(B). Este resultado es similar al obtenido con datos experimentales [9] como se observa en el *inset* de la Figura 1B, donde la I_{K1} aumenta conforme aumenta el valor de $[K^+]_o$, desde 2 mM hasta 10 mM pasando por 5.4 mM. El modelo GPB y hiPSC siguen este mismo patrón, la I_{K1} aumenta cuando la concentración de potasio extracelular se eleva.

La principal diferencia entre ambos modelos es que el modelo hiPSC alcanza valores máximos de corrientes a potenciales menos negativos que el modelo GPB (e incluso que el modelo de ORd y el de ORd modificado) como podemos observar en la Figura 1(C) y 1(D). Dicho valor máximo es menor en el modelo de hiPSC a cualquiera de los niveles de potasio estudiados.

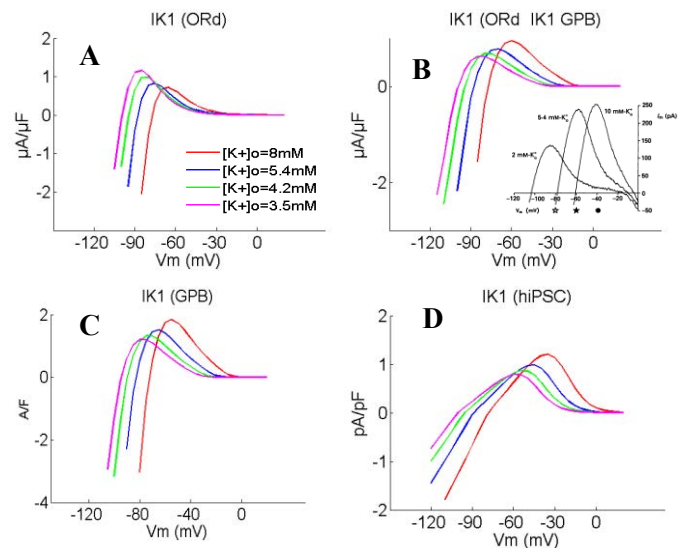


Figura 1. Curvas I_{K1} -V obtenidas tras los experimentos de *Voltage Clamp*. (A) Curva I_{K1} -V correspondiente al modelo de ORd. (B) Curva I_{K1} -V correspondiente al modelo de ORd con la I_{K1} del modelo GPB escalada. *Inset*: curva I_{K1} -V a diferentes niveles de $[K^+]_o$ [9]. (C) Curva I_{K1} -V correspondiente al modelo de GPB. (D) Curva I_{K1} -V correspondiente al modelo hiPSC-CM.

Las gráficas de la Figura 2 pretenden comparar de una forma visual el modelo original de ORd con el modelo que presenta la corriente I_{K1} modificada. Para realizar estas comparaciones representamos el PA de ambos modelos y la I_{K1} en condiciones de hipercalemia e hipocalemia.

La Figura 2(A) representa el PA del modelo ORd y la Figura 2(C) el del modelo ORd con la I_{K1} modificada, ambas a diferentes concentraciones de potasio. Podemos observar que el potencial de reposo disminuye (en valor absoluto) en hipercalemia ($[K^+]_o = 8 \text{ mM}$), y por el contrario cuando disminuye el nivel de potasio extracelular (hipocalemia) aumenta progresivamente. A medida que la concentración de potasio extracelular va disminuyendo la duración del potencial de acción (APD) va creciendo progresivamente, como vemos en el *inset* de la Figura 2(E) y 2(F) correspondiente a datos experimentales[11]

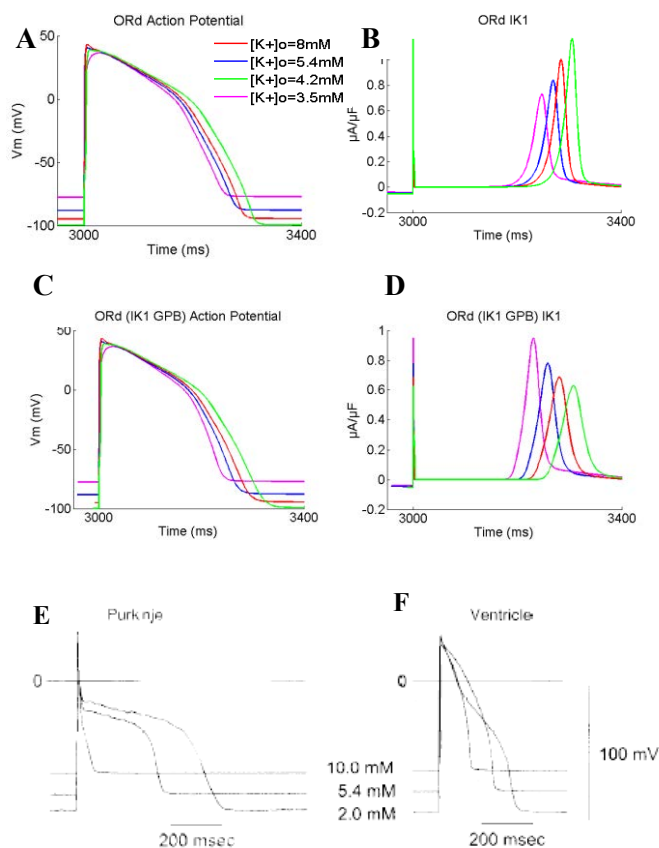


Figura 2. (A) Potencial de acción modelo ORd (B) Corriente rectificadora de potasio (I_{K1}) modelo ORd. (C) Potencial de acción modelo ORd con I_{K1} modificada (D) Corriente rectificadora de potasio (I_{K1}) modelo ORd con I_{K1} modificada. (E) y (F) Ejemplos representativos de potenciales de acción de conejo en las fibras de Purkinje y miocitos ventriculares a diferentes $[K^+]_o$ [11].

En lo referente a la amplitud máxima del potencial de acción se encuentra disminuida en condiciones de hipercalemia y en condiciones extremas de hipocalemia. Mientras que a una leve disminución del nivel de potasio extracelular ($[K^+]_o = 4.2 \text{ mM}$) aumenta como se observa en la Figura 2(A) y 2(C).

La Figura 2(B) representa la I_{K1} del modelo de ORd. Al aumentar la concentración de potasio extracelular la I_{K1} se reduce y se adelanta temporalmente como observamos en el trazo morado de la Figura 2(B). Por el contrario, al disminuir el nivel de potasio extracelular la I_{K1} aumenta progresivamente como vemos en las representaciones roja y verde de dicha figura.

La I_{K1} graficada en la Figura 2(D) corresponde al modelo ORd con la I_{K1} modificada. Disminuye a medida que se reduce la concentración de potasio extracelular. En caso contrario, cuando el nivel de potasio extracelular aumenta, aumenta la I_{K1} , lo cual no sucedía en el modelo original ORd.

Las representaciones de la Figura 3 comparan para cada uno de los valores de potasio utilizados en este proyecto el comportamiento de los diferentes modelos.

La Figura 3(A) muestra el potencial de acción de los diferentes modelos a un $[K^+]_o = 5.4 \text{ mM}$. En condiciones de normalidad, el modelo GPB alcanza un pico más alto en el PA que el resto de modelos y no muestra una meseta tan predominante. Además, el modelo GPB se encuentra caracterizado por su joroba.

El modelo hiPSCM presenta un PA más alargado que el resto de modelos.

El potencial de reposo se va haciendo negativo progresivamente en todos los modelos, siendo más predominante en el modelo hiPSC como observamos en las Figuras 3(C) y 3(D).

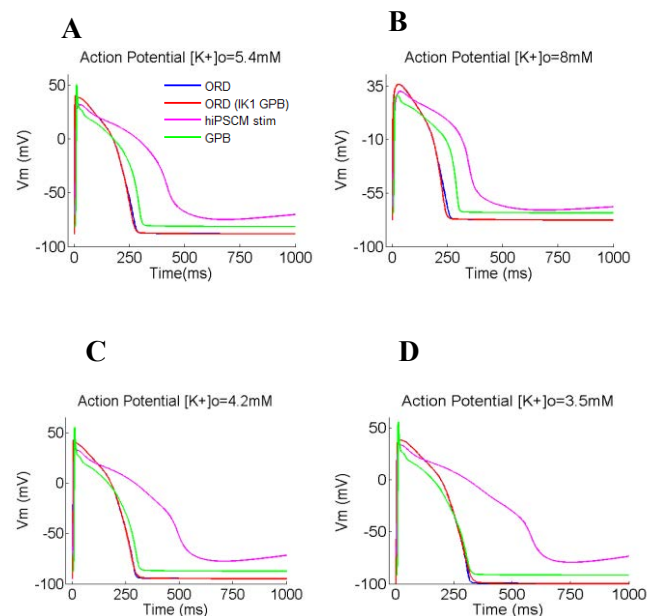


Figura 3. Comparación del potencial de acción de los diferentes modelos a cada uno de los niveles de potasio extracelular estudiados. (A) Potencial de acción de cada modelo cuando $[K^+]_o = 8 \text{ mM}$. (B) Potencial de acción de cada modelo cuando $[K^+]_o = 5.4 \text{ mM}$. (C) Potencial de acción de cada modelo cuando $[K^+]_o = 4.2 \text{ mM}$. (D) Potencial de acción de cada modelo cuando $[K^+]_o = 3.5 \text{ mM}$.

La tabla 1 recoge los parámetros característicos del potencial de acción de los 4 modelos estudiados en el presente trabajo. Estos son la duración del potencial de acción (APD) medida en mS y el potencial de reposo (Vrep) dado en mV.

Los resultados obtenidos permiten afirmar que el APD aumenta a medida que disminuye $[K^+]_o$ en todos los modelos, aunque destaca el modelo hiPSC por tener un incremento más brusco. El potencial de reposo se hace más negativo conforme disminuye el nivel de potasio.

$[K^+]_o$	ORd		ORd (I_{K1} GPB escalada)		GPB		hiPSC	
	APD90 [mS]	Vrep [mV]	APD90 [mS]	Vrep [mV]	APD90 [mS]	Vrep [mV]	APD90 [mS]	Vrep [mV]
8 mM	246.2877	-77.6415	234.2024	-77.7119	288.6444	-71.5766	390.7562	-66.5163
5.4 mM	267.3864	-88.1222	261.0520	-88.2857	289.5203	-81.3868	448.2845	-70.2379
4.2 mM	281.9766	-94.8002	281.9737	-95.053	292.8211	-87.4537	512.2855	-71.8591
3.5 mM	301.6497	-99.6364	307.5917	-99.9653	299.0254	-91.7272	591.9781	-73.5944

Tabla 1. Parámetros característicos de los todos los modelos en los diferentes niveles $[K^+]_o$.

4. Conclusiones

El comportamiento del potencial de acción en el modelo de ORd y ORd con la I_{K1} de GPB escalada es similar. Sin embargo, la I_{K1} responde de manera contraria a los cambios en el nivel de potasio extracelular en estos modelos. La modificación en la formulación de la corriente I_{K1} del modelo ORd permite obtener un comportamiento similar al observado experimentalmente.

El APD aumenta en condiciones de hipocalemia a medida que se disminuye el $[K^+]_o$ en todos los modelos, aunque destaca el modelo hiPSC por tener un incremento más brusco. El potencial de reposo disminuye en valor absoluto en condiciones de hipercalemia de forma similar en los modelos estudiados.

Por último, podemos afirmar que el modelo hiPSC_CM tiene un comportamiento semejante a los modelos que imitan el potencial cardíaco ventricular humano. De esta forma se confirma su aplicabilidad cardíaca como computacional capaz de reproducir los comportamientos fisiológicos en el caso de la hipercalemia e hipocalemia.

5. Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente subvencionado por el Programa Prometeo (PROMETEO/2016/088) de la Conselleria d'Educació Formació I Ocupació, Generalitat Valenciana.

6. Referencias

[1] OMS-<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/es/>. Fecha de consulta: Mayo 2016.

[2] El-Sherif, N., & Turitto, G. "Electrolyte disorders and arrhythmogenesis". *Cardiology Journal*. 2011;18(3):233-45

[3] Clayton R, Bernus O, Cherry E. "Models of cardiac tissue electrophysiology: progress, challenges and open questions". *Progress in Biophysics & Molecular Biology* 2011;104:22-48.

[4] Oh Y, Wei H, Ma D, Sun X, Liew R. "Clinical applications of patient-specific induced pluripotent stem cells in cardiovascular medicine". *Heart*. 2012;98:443-9.

[5] M. Mata-Miranda, G.J Vázquez-Zapién, V.Sánchez-Monroy, "Generalidades y aplicaciones de las células madre" *Perinatología y reproducción humana*. 2013;27(3):194-199.

[6] Paci, M., Hyttinen, J., Aalto-Setälä, K., & Severi, S. "Supplementary Methods: Computational models of ventricular- and atrial-like human induced pluripotent stem cell derived cardiomyocytes". *Annals of Biomedical Engineering*, 2013;41: 2334-48.

[7] T. O'Hara, L. Virág, A. Varró, and Y. Rudy, "Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: Model formulation and experimental validation," *PLoS Computational Biology*, 2011;7(5):1-29.

[8] Grandi, E., Pasqualini, F. S., & Bers, D. M. "A novel computational model of the human ventricular action potential and Ca transient" *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 2010;48(1):112-121.

[9] Shimoni Y, Clark RB, Giles WR. "Role of an inwardly rectifying potassium current in rabbit ventricular action potential". *The Journal of Physiology*. 1992;448:709-27.

[10] Paci, M., Hyttinen, J., Rodríguez, B., & Severi, S. "Human induced pluripotent stem cell-derived versus adult cardiomyocytes: an in silico electrophysiological study on ionic current block effects". *British Journal of Pharmacology*. 2015; 172(21):5147-60.

[11] Cordeiro JM, Spitzer KW, Giles WR. "Repolarizing K+ currents in rabbit heart Purkinje cells". *The Journal of Physiology*. 1998;508:811-23.

Estudio mediante modelado y simulación del efecto de la isquemia miocárdica aguda en las fibras de Purkinje de corazón humano

A García-Escolano¹, MT Mora¹, V Monasterio², JF Rodríguez³, JM Ferrero¹

¹Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería, Univ. Politécnica de Valencia, España (cferrero@ci2b.upv.es)

²Universidad San Jorge, Villanueva de Gállego, España

³Politecnico di Milano, Milán, Italia

Resumen

Es sabido que la isquemia miocárdica, en su fase aguda, provoca cambios electrofisiológicos que predisponen al miocardio a sufrir arritmias reentrantes tales como la fibrilación ventricular. Sin embargo, el papel arritmogénico de las fibras de Purkinje es todavía desconocido. El objetivo del presente trabajo es estudiar, mediante simulación computacional, el efecto de la isquemia miocárdica aguda sobre el potencial de acción de las fibras de Purkinje humanas y su influencia en los potenciales de acción de los cardiomiocitos a los que éstas están acopladas. Para ello se modificaron los modelos de fibra de Purkinje de Stewart y de cardiomiocito ventricular de ten Tusscher para incluir los efectos de la isquemia. Se sometió al sistema formado por el acoplamiento entre los dos modelos a condiciones variables de hipoxia, hiperkalemia y acidosis, los tres componentes de la isquemia. Los resultados muestran un aumento de la automaticidad de las fibras de Purkinje en condiciones de isquemia moderada, que en algunos casos indujo actividad ectópica en los cardiomiocitos acoplados. El factor más influyente en este fenómeno es la hiperkalemia, mientras que la hipoxia y la acidosis tienden a reducir la automaticidad anormal. Los resultados del estudio enfatizan el posible papel de las fibras de Purkinje en la generación del estímulo prematuro que inicia una fibrilación ventricular.

1. Introducción

Según la OMS, la mortalidad causada por cardiopatías coronarias fue de 7.4 millones de personas en el año 2012 [1]. Por un lado, muchas de estas patologías están relacionadas con la oclusión de una arteria coronaria y, por tanto, con la isquemia miocárdica. Por otro lado, existe una relación entre el cese de flujo sanguíneo a través de un vaso coronario y la generación de arritmias malignas [2].

Las arritmias son originadas por un agente causante, que inicia una reentrada, y un factor de mantenimiento, que perpetúa la circulación eléctrica anómala en el tiempo. Los latidos prematuros propagados durante un período crítico son capaces de generar reentradas [3] y la investigación al respecto se ha centrado en el pasado en los cardiomiocitos ventriculares, estableciéndose relaciones entre la actividad bioeléctrica de las células en isquemia miocárdica y el origen de las arritmias.

Sin embargo, existen escasos estudios acerca de los fenómenos bioeléctricos de las fibras de Purkinje humanas en condiciones de isquemia miocárdica aguda y su posible implicación en la generación de latidos prematuros. El

hecho de que las fibras de Purkinje tengan carácter marcapasos (es decir, muestren disparos espontáneos) las convierte hipotéticamente en posibles focos arritmogénicos. La caracterización de la actividad eléctrica de estas células mediante experimentación *in silico* con modelos computacionales y simulaciones supondría por consiguiente una contribución para ampliar el conocimiento de los mecanismos proarrítmicos en el tejido cardíaco.

Adicionalmente, debido a que las fibras de Purkinje propagan potenciales de acción (PA) hacia los cardiomiocitos ventriculares mediante la unión Purkinje-músculo, también resulta relevante el estudio del funcionamiento de dichas uniones durante la isquemia miocárdica aguda.

El objetivo del presente trabajo es analizar, mediante simulación computacional, el posible efecto arritmogénico, por generación de latidos prematuros de manera espontánea, de las fibras de Purkinje de corazón humano durante los diez primeros minutos posteriores a la oclusión de una arteria coronaria.

2. Métodos

Los modelos matemáticos utilizados se basan en los de fibra de Purkinje de Stewart et al. [4] y cardiomiocito ventricular de Ten Tusscher et al. [5]. Con la finalidad de simular las condiciones de isquemia aguda, consistentes en hiperkalemia, acidosis e hipoxia, ambos modelos fueron modificados para incluir factores multiplicativos dependientes del pH sobre las corrientes I_{Na} e I_{CaL} , y del ATP, el ADP y el ion magnesio sobre las corrientes de las bombas I_{pCa} , I_{up} e I_{NaK} [6]. Además, se introdujo la corriente $I_{K(ATP)}$ de acuerdo al modelo de Ferrero et al. [7].

Para definir un modelo conectado de fibra de Purkinje y cardiomiocito, se acoplaron los modelos antedichos mediante una conductancia de 0.155 pS en serie con un factor de amplificación de magnitud 200, de acuerdo con la formulación de Vigmond et al. [8].

Las condiciones experimentales y ambientales se establecieron para el pH y las concentraciones de ADP, ATP, Mg^{2+} y K^+ . Su rango abarca desde situaciones no isquémicas (control) hasta condiciones de isquemia aguda severa, como se puede observar en la Tabla 1, en la que los

subíndices i y e indican intracelular y extracelular, respectivamente. La evolución temporal de las variables se formuló, por un lado, como una función lineal continua para realizar simulaciones dinámicas durante 10 minutos y analizar los cambios en el potencial de acción con la evolución conjunta de todas las condiciones en el tiempo. Por otro lado, se modelizaron las variables como valores fijos para llevar a cabo simulaciones estáticas y estudiar el efecto por separado de cada condición. Las simulaciones estáticas abarcaron el estudio de cuatro condiciones: hiperkalemia, hiperkalemia con hipoxia, hiperkalemia con acidosis e isquemia.

Parámetro	Valor en isquemia	Valor en control
$[K^+]_e$	6.4-15.4 mM	5.4 mM
$[ATP]_i$	4.6 mM	-6.8 mM
$[ADP]_i$	0.099 mM	0.015 mM
$[Mg^{2+}]_i$	2.5 mM	0.5 mM
pH _i	1	0.5

Tabla 1. Valores de los diferentes parámetros ambientales representativos de la isquemia miocárdica aguda [9].

Debido a que las fibras de Purkinje son estimuladas de manera natural desde el nodo AV y, en última instancia, el nodo SA, también se llevaron a cabo simulaciones con y sin la influencia del nodo SA tanto para fibra de Purkinje como para el modelo acoplado, de forma dinámica y estática. Las corrientes provenientes del nodo SA se introdujeron como estímulos negativos de $-25 \mu A$ con frecuencia de 1 Hz y duración de 1 ms.

En síntesis, surgieron ocho conjuntos de simulaciones: las combinaciones de fibra de Purkinje con y sin estimulación sinusal, de manera estática o dinámica, y un proceso idéntico para el modelo acoplado fibra de Purkinje-endocardio, en el que se registraron los potenciales de acción de ambas células.

La ejecución de las simulaciones se realizó en entorno MATLAB utilizando el *solver* ode15s. Para analizar los registros de potenciales de acción de simulaciones con modelos no estimulados, se midieron la duración del potencial de acción al 90% de la repolarización (APD), la frecuencia de auto-estimulación espontánea de las fibras de Purkinje y la amplitud máxima de los potenciales acción. El software de análisis se también fue implementado en entorno MATLAB.

3. Resultados

En primer lugar, se llevaron a cabo simulaciones estáticas en ausencia de estimulación, en las que se combinaron los componentes de la isquemia tal como se explicó en el apartado de “Métodos”, utilizando el modelo de fibra de Purkinje aislada.

La Figura 1 muestra la dependencia de la frecuencia de auto-disparo de la fibra de Purkinje simulada frente a la concentración extracelular de potasio para las diferentes combinaciones isquémicas simuladas. Como puede

observarse, la frecuencia de auto-disparo de la fibra de Purkinje aislada y no estimulada aumenta al progresar la hiperkalemia, sufre un descenso para valores de $[K^+]_e$ moderados, y continúa aumentando para niveles de hiperkalemia más severos. Este patrón muestra diferencias cuantitativas en función de la combinación de componentes isquémicas simuladas. La máxima frecuencia de auto-disparo (1.32 Hz) se alcanza para $[K^+]_e = 8$ mM en ausencia de hipoxia y acidosis. La presencia adicional de hipoxia y acidosis reduce el valor de la frecuencia máxima (p.ej., 1.21 Hz en presencia de hipoxia) y/o cambia el nivel de hiperkalemia que proporciona la máxima frecuencia de auto-disparo (p.ej., $[K^+]_e = 7.4$ mM en presencia de acidosis). Por último, la presencia simultánea de las tres componentes de la isquemia inhibe por completo la automaticidad de las fibras de Purkinje para valores de $[K^+]_e$ inferiores a 9.6 mM.

Así, la situación de hiperkalemia progresiva resultó ser la más determinante en el ascenso de la frecuencia de auto-disparo, mientras que la presencia simultánea de hipoxia y/o acidosis tiende a reducir la excitabilidad espontánea de las fibras de Purkinje aisladas.

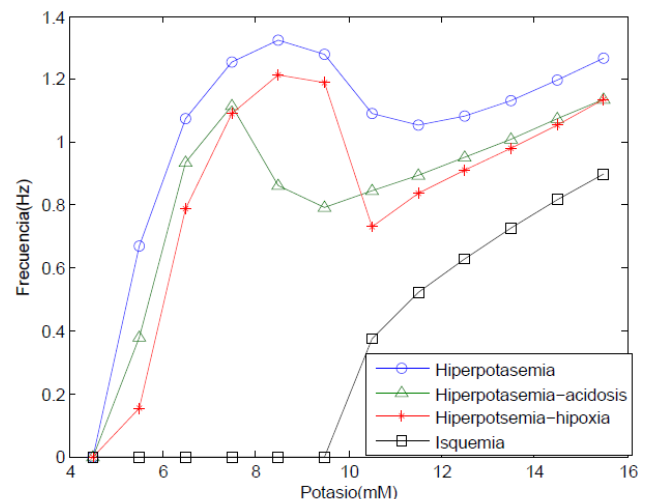


Figura 1. Evolución de la frecuencia de auto-disparo en una fibra de Purkinje aislada y no estimulada para cuatro condiciones patológicas.

En cuanto a los parámetros del PA medidos, se observó tanto para el APD como para la amplitud máxima del PA un aumento inicial seguido por un descenso a medida que el valor de $[K^+]_e$ se incrementaba.

En segundo lugar, se llevaron a cabo simulaciones sin estímulo sinusal y con parámetros ambientales dinámicos. Los resultados, mostrados en la Figura 2, muestran una supresión transitoria de la automaticidad alrededor del quinto minuto de isquemia (entre los segundos 1300 y 1400 de la simulación), mientras que el potencial de reposo se eleva y la amplitud máxima disminuye. Tras este cese transitorio de la automaticidad de la fibra de Purkinje, se reinstaura una frecuencia de auto-disparo inferior a la de condiciones de control.

En tercer lugar, se llevaron a cabo simulaciones con estímulo sinusal y parámetros ambientales estáticos. Los resultados, mostrados en la Figura 3, revelan la aparición

de PA prematuros para valores hiperkalémicos entre 6.4 y 10.4 mM y de hipoxia con hiperkalemia entre 7.4 y 9.4 mM. En la *Figura 3*, se puede observar un segmento del registro de PA para hiperkalemia de 8.4 mM. Estos latidos prematuros presentan intervalos de acoplamiento variable con los latidos regulares, y son el resultado de la alternancia entre potenciales de acción de origen sinusal (estimulados) y no sinusal (espontáneos).

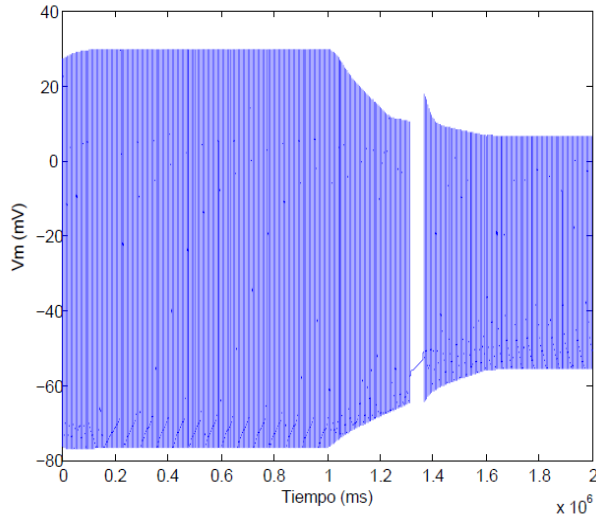


Figura 2. Registro de PA en la fibra de Purkinje para parámetros ambientales dinámicos. La isquemia se inicia tras 1000 segundos de estabilización celular en condiciones de control.

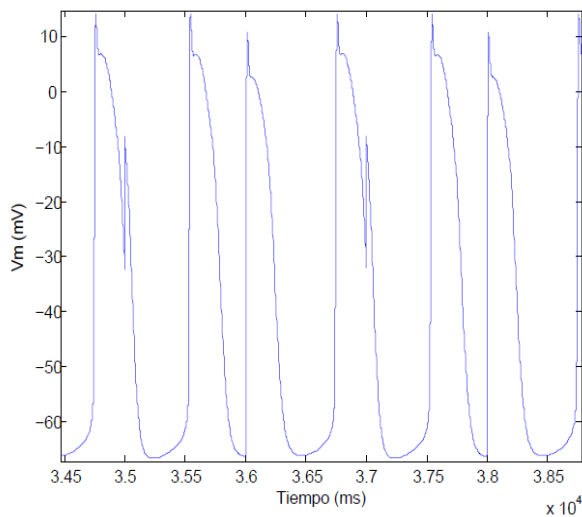


Figura 3. Registro de PA para simulación dinámica estimulada en la que se observan dos latidos prematuros.

El segundo bloque de simulaciones corresponde al modelo acoplado de fibra de Purkinje y cardiomiocito. Para simulaciones en ausencia de estímulo sinusal y parámetros ambientales estáticos (no mostrado en las figuras), el comportamiento electro-fisiológico de la fibra de Purkinje no mostró diferencias significativas con el caso aislado. Sin embargo, los PA en el endocardio sólo se desencadenaron en algunas de las condiciones isquémicas ensayadas, incluyendo valores hiperkalémicos entre 5.4 y 8.4 mM.

En el conjunto de simulaciones sin estímulo sinusal y parámetros ambientales dinámicos, los resultados mostraron un patrón similar al encontrado para el modelo de fibra de Purkinje aislada (ver *Figura 4*). Durante la etapa no isquémica y al inicio de la progresión de los parámetros isquémicos, la fibra de Purkinje fue capaz de disparar PAs en el cardiomiocito para valores moderados de isquemia (primer minuto). Sin embargo, la estimulación recibida por el cardiomiocito desde la fibra de Purkinje a partir del primer minuto de isquemia fue subumbral, produciéndose un bloqueo en la conducción.

En otro conjunto de simulaciones, la estimulación sinusal con parámetros ambientales estáticos presentaron PA prematuros en ambas células para valores hiperkalémicos entre 6.4 y 9.4 mM (ver *Figura 5*). Por último, en las simulaciones con estimulación sinusal y parámetros ambientales dinámicos, aparecieron PA prematuros en la fibra de Purkinje que no conseguían disparos de PA en el cardiomiocito (no mostrado).

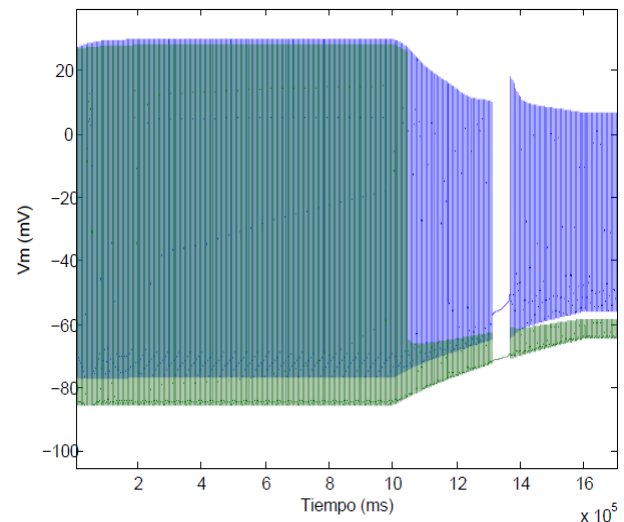


Figura 4. Registro de PA para el modelo acoplado fibra de Purkinje (azul) y endocardio (verde) en simulación dinámica sin estímulo sinusal.

4. Discusión

Con objeto de relacionar los efectos de la isquemia miocárdica aguda y la generación de latidos prematuros en las fibras de Purkinje como desencadenantes de arritmias, es necesario focalizar el análisis en su frecuencia de auto-disparo. Observando los resultados del modelo de fibra de Purkinje aislada, se sugiere que el efecto de la isquemia miocárdica aguda sobre dichas células es proarrítmico, debido al ascenso de la frecuencia de auto-disparo, que podría resultar superior a la frecuencia sinusal y ocasionar PA prematuros en determinados rangos hiperkalémicos. La causa del aumento de la frecuencia podría encontrarse en el descenso del potencial de reposo en valor absoluto con la hiperkalemia. Ello provocaría que la corriente despolarizante I_f necesite un intervalo menor de tiempo para alcanzar el potencial umbral y desencadenar el PA. Sin embargo, la progresión hiperkalémica también puede provocar cambios en el potencial umbral que desencadena

la apertura masiva de canales iónicos I_{Na} , por lo que la frecuencia de auto-disparo finalmente dependería de un equilibrio variante entre los potenciales umbral y de reposo.

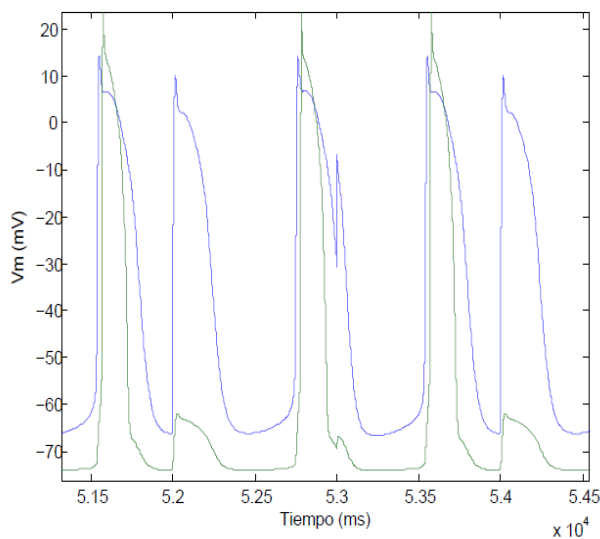


Figura 5. Registro de PA para el modelo acoplado durante una simulación estática y con estímulo sinusal y concentración de K^+ de 8.4 mM.

Mientras que la evolución de la hiperkalemia podría aumentar la probabilidad de arritmias, tanto la acidosis como la hipoxia contribuirían al descenso de la frecuencia de automaticidad. Uno de los motivos se podría encontrar en una disminución de la densidad de corriente I_{Na} debido a la acidosis, por lo que se necesitaría un estímulo de mayor duración para desencadenar el PA. Otra causa podría hallarse en la apertura de los canales $I_{K(ATP)}$ como consecuencia de la hipoxia, hecho que contrarrestaría la fuerza despolarizante de I_{Na} .

Si se analiza el acoplamiento del modelo de fibra de Purkinje con el de endocardio, mientras que la evolución de la fibra de Purkinje es similar para todas las simulaciones, el endocardio suprime su capacidad de desencadenar PA en la mayoría de condiciones isquémicas ensayadas. Ello se debe a que su excitabilidad sería más sensible a los cambios experimentados en la isquemia miocárdica aguda, como el incremento del potencial de reposo, la disminución de las corrientes despolarizantes o la presencia de $I_{K(ATP)}$. Esta diferencia celular supondría un factor protector de la arritmogénesis, debido a que los PA prematuros ocasionados en la fibras conductoras, no se propagarían al resto del tejido. Sin embargo, sobrevendría el problema de que el endocardio es incapaz de excitarse durante la fase aguda y, por lo tanto, de contraerse.

En todo caso, sería necesario investigar en concreto las causas de la evolución de cada parámetro a nivel de corrientes iónicas para determinar la influencia que ejercen sobre la proarrítmicidad y permitir crear terapias con dianas concretas.

5. Conclusiones

Se han llevado a cabo simulaciones del efecto de la isquemia miocárdica aguda sobre un modelo individual de fibra de Purkinje y un modelo acoplado de fibra de Purkinje y endocardio modificados. Al analizarse sus registros de potenciales de acción, APD, amplitud máxima y frecuencia de auto-disparo, se ha observado que dicha frecuencia es capaz de ascender a valores superiores a los dictados por el nodo SA. De ello se deduce que la fibra de Purkinje es capaz de generar y propagar PA prematuros y desencadenar arritmias.

Entre los factores analizados, la hiperkalemia ha sido el más influyente en la capacidad proarrítmica, mientras que la acidosis y la hipoxia han contribuido a reducir la frecuencia de auto-disparo.

Por ello, se concluye que la automaticidad exacerbada de las fibras de Purkinje en isquemia aguda moderada podría constituir un mecanismo de generación de PA ectópicos que actuaran como desencadenantes de arritmias reentrantes como la fibrilación ventricular.

Agradecimientos

Este trabajo fue parcialmente financiado por el “VI Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica” del Ministerio de Economía y Competitividad (proyecto TIN2012-37546-C03-01) y la Comisión Europea (fondos FEDER).

Referencias

- [1] Página web de la Organización Mundial de la Salud (OMS 2015). <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/> (Consultada: Julio 2016).
- [2] Kummur V, Abbas AK, Aster JC. Patología estructural y funcional. Elsevier, 2015.
- [3] Cascio WE. Myocardial ischemia: what factors determine arrhythmogenesis? *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 2001, pp. 726-729.
- [4] Stewart P, Aslanidi OV, Noble D, Noble PJ, Boyett MR, Zhang H. Mathematical models of the electrical action potential of Purkinje fibre cells. *Philos Transact A Math Phys Eng Sci.*, 2009, pp 2225-2255.
- [5] ten Tusscher KH, Noble D, Noble PJ, Panfilov AV. A model for human ventricular tissue. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*, 2004, pp. 1573-1589.
- [6] Cortassa S, Aon MA, O'Rourke B, Jacques R, Tseng HJ, Marbán E, Winslow RL. A computational model integrating electrophysiology, contraction, and mitochondrial bioenergetics in the ventricular myocyte. *Phil Trans R Soc Lond B.*, pp 353-398.
- [7] Ferrero JM, Sáiz J, Ferrero JM, Thakor NV. Simulation of action potentials from metabolically impaired cardiac myocytes. Role of ATP-sensitive K^+ current. *Circ Res.* pp. 208-221.
- [8] Vigmond EJ, Clements C. Construction of a computer model to investigate sawtooth effects in the Purkinje system. *IEEE transactions on biomedical engineering.* pp. 389-399.

Pósters 2

Jueves 24 de Noviembre

Modelo Computacional Cardíaco de 3 campos: sangre, electrofisiología y tejido

M. Vázquez¹, A. Santiago¹, J. Aguado-Sierra¹, R. Arís¹, E. Casoni¹, G. Houzeaux¹, M. López¹, F. Sacco², J.C. Cajas¹, C. Butakoff²

¹ Barcelona Supercomputing Center, Barcelona, España, mariano.vazquez@bsc.es

² Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, España

Resumen

En este trabajo presentamos el modelo computacional cardíaco desarrollado en el BSC-CNS. En él, planteamos el corazón como un sistema físico de tres campos: electrofisiología, que hace contraer el músculo, que a su vez actúa empujando la sangre a través de las válvulas. De esta forma modelamos la acción de bombeo del corazón. El modelo está basado en Alya, que es un software multifísica desarrollado en el BSC y que está específicamente diseñado para correr en superordenadores. En particular, Marenostrum, gestionado por el BSC.

1. Motivación

El corazón es una bomba. La más perfecta bomba, creada por la Naturaleza después de millones de años de evolución. Como todo sistema físico, su funcionamiento puede ser modelado por un sistema fuertemente acoplado de ecuaciones diferenciales transitorias y no-lineales. A nivel de órgano o de tejido, estas ecuaciones pueden plantearse bajo la hipótesis de mecánica del continuo. Considerado así, la solución de este problema debe realizarse de forma numérica y sin dudas tendrá un muy alto costo computacional. En el Barcelona Supercomputing Center (BSC) desarrollamos Alya, que es un programa para resolver problemas multi-escala y multi-física acoplados en superordenadores, escrito de forma de aprovechar eficientemente la potencia de cálculo. Alya es capaz de simular las cuatro cavidades del corazón bombeando sangre con las válvulas abriendo y cerrando y teniendo en cuenta la mayor cantidad de información anatómica posible. La utilidad del modelo va desde ayudar a entender el funcionamiento del corazón, tanto sano como enfermo, hasta poder ser utilizado como herramienta de diagnóstico y tratamiento en cardiología.

2. Modelización cardíaca computacional

Si lo consideramos como un sistema físico definido por una serie de ecuaciones diferenciales acopladas, el corazón puede considerarse como gobernado por tres campos, modelados por ecuaciones bajo la hipótesis del continuo (i.e., no modelamos célula por célula sino el tejido como "el promedio" de las células cardíacas, considerado como un medio fuertemente anisótropo pero continuo):

- **Electrofisiología:** es la propagación de un potencial de activación a través de un medio

excitable, con ecuaciones de difusión más unos términos no lineales. El tensor de difusión depende del espacio y está definido por la orientación de las fibras musculares cardíacas en cada punto. Los términos no lineales corresponden al modelo celular "promediado" en el espacio. Pueden ser muy complejas, modelando decenas de concentraciones de iones fuertemente acopladas entre ellas.

- **Tejido:** el tejido se modela como un material no lineal de tipo hiperelástico, utilizando una formulación Lagrangiana total en grandes deformaciones. El problema es dinámico. El material es ortotrópico, cuya anisotropía viene determinada también por las fibras musculares cardíacas. El material se define como una mezcla de dos partes: una activa, que se genera una fuerza contractil a lo largo de las fibras que depende de una forma potencialmente muy compleja de la concentración de iones de calcio que a su vez está directamente relacionada con el potencial acción al propagarse, o sea, el primer campo (la Electrofisiología); y otra pasiva, que responde al tejido conectivo, el agua, etc.
- **Sangre:** la sangre dentro de las cavidades y las arterias se modela usando las ecuaciones de Navier-Stokes como un fluido incompresible viscoso sobre el que actúa el segundo campo (el Tejido) al contraerse o relajarse. La superficie de interacción entre la sangre y el tejido es el endocardio, y las superficies mojadas de válvulas y vasos sanguíneos. Se supone que el flujo dentro de las cavidades es altamente transitorio pero no turbulento (de acuerdo con el concepto de turbulencia que refiere a su modelización computacional). La fuerza que la sangre hace contra el tejido es tanto viscosa (cortante) como de presión (normal a la pared).

Para poder resolver el problema, los tres campos así modelados por ecuaciones diferenciales acopladas se discretizan en tiempo y en espacio. En tiempo, se usa un método de diferencias finitas. Y en espacio, se usa el método de los elementos finitos, para lo cual es necesario generar una malla de volumen que describa perfectamente la geometría y constituya el escenario de la simulación.

Alya [1] es un código de simulación de problemas multi-física basado en elementos finitos desarrollado en el BSC. En su programación intervienen técnicas de programación paralela que permiten al código extraer una gran cantidad de potencia de cálculo de ordenadores paralelos de gran tamaño. Entre los problemas que Alya resuelve hay flujo compresible e incompresible, mecánica de sólidos, electrofisiología, electromagnetismo, combustión, etc. Además, Alya permite acoplar todos esos problemas manteniendo la eficiencia paralela especialmente en superordenadores.

Desde el punto de vista de un físico computacional, la modelización cardíaca representa el problema más complejo al que uno puede enfrentarse. Las dificultades que presenta son múltiples: incerteza en los modelos fisiológicos, difícil validación o verificación, complejidad de implementación, alto costo computacional, dificultad matemática en problemas acoplados de tal magnitud, incerteza en la información anatómica (geometría, estructura, condiciones de contorno e iniciales, etc.), dificultad en la generación de las mallas, etc.

3. Resultados

En este trabajo se describen someramente algunos ejemplos preliminares.

3.1. Desarrollo de un banco de trabajo computacional para pruebas de medicamentos anti-arritmia

En este ejemplo se simulan muestras "computacionales" de tejido transmural ventricular. El modelo celular de electrofisiología es el de Panfilov-Ten Tuschler [2], en el que se simulan diferentes corrientes de iones, pudiendo modularse tanto para arritmias como para acción de medicamentos. La figura 1 muestra un estudio preliminar de Síndrome de Brugada y el efecto de Quinidina, a través de sus curvas de restitución. Las curvas de restitución de potencial acción describen la respuesta dinámica del potencial respecto de cambios en la frecuencia de latido cardíaco de los miocitos. Las concentraciones iónicas a través de las membranas de los miocitos alcanzan diferentes estados homeostáticos dependiendo de la frecuencia. Las curvas de restitución están definidas como el cambio de duración del potencial acción en relación al intervalo diastólico que se usa a su vez para evaluar el riesgo de arritmia. A medida que el intervalo diastólico disminuye y la duración del potencial acción aumenta, hay un mayor riesgo de arritmia.

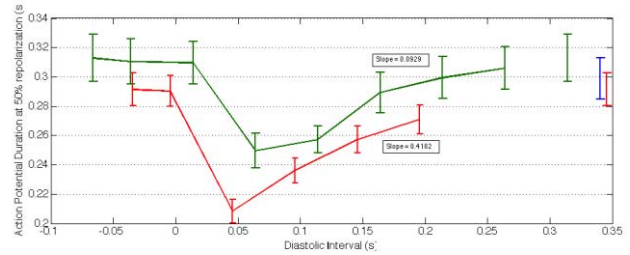


Figura 1. Curva de restitución: Duración del potencial acción vs. intervalo diastólico con y sin aplicación de Quinidina, sin (rojo) y con (verde) aplicación de la droga anti-arrítmica.

La simulación es electromecánica (ver [3,4] para más detalles), en que el acople se realiza utilizando un modelo de Niederer-Hunter. El modelo material sólido es de Holzapfel-Ogden. Las fibras se calculan utilizando un modelo "rule-based" de Streeter.

3.2. Simulaciones de 3-campos en geometrías mono-ventriculares para el estudio de marcapasos transcater

En este caso se realiza una simulación de 3-campos, fluido-electromecánica en una geometría simplificada de un ventrículo izquierdo. En un lugar arbitrario dentro del ventrículo se ubica una versión genérica de un marcapasos transcater. Se realizan simulaciones de la contracción electromecánica del ventrículo tomando el impulso inicial en la base del marcapasos para estudiar el efecto de la dinámica de la sangre alrededor del marcapaso y las tensiones que genera en especial en su base, que es donde marcapasos y tejido se tocan. El modelo electrofisiológico es el clásico de FitzHugh-Nagumo [3,4], el acople de Niederer-Hunter y el flujo es incompresible Navier-Stokes utilizando una formulación Arbitrary Lagrangian-Eulerian (ALE) para el acople fluido-estructura [5].

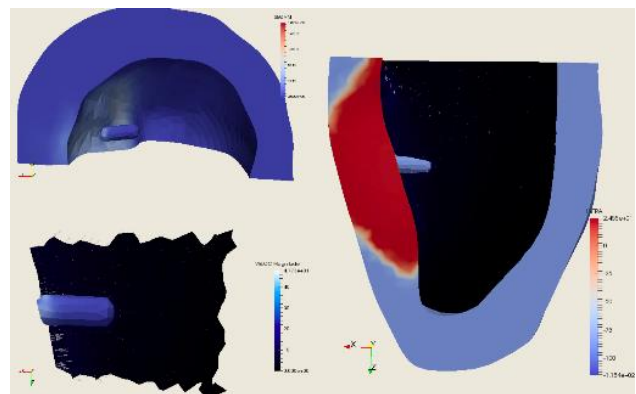


Figura 2. Simulación de 3 campos para un ventrículo, Instante 1. Potencial acción, Von Mises y vectores de velocidad del fluido.

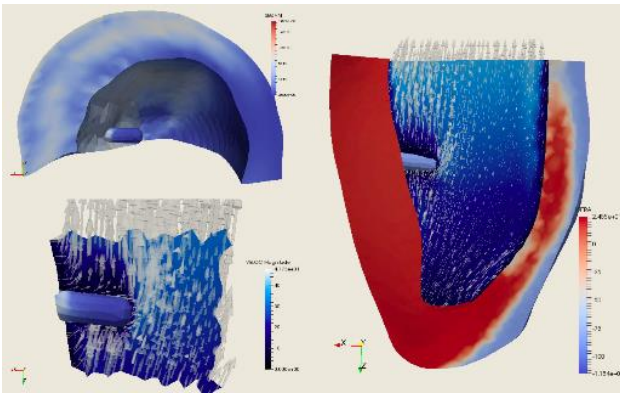


Figura 3. Simulación de 3 campos para un ventrículo, Instante 2. Potencial acción, Von Misses y vectores de velocidad del fluido.

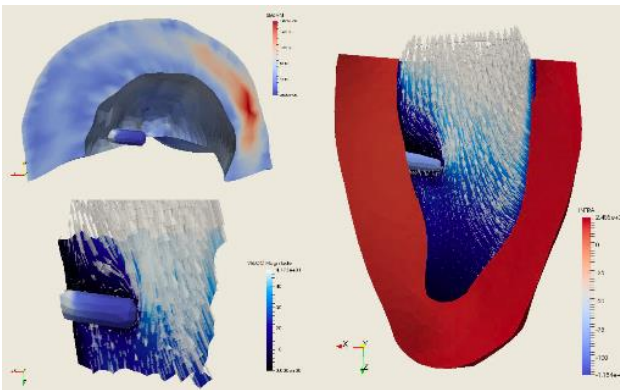


Figura 4. Simulación de 3 campos para un ventrículo, Instante 3. Potencial acción, Von Misses y vectores de velocidad del fluido.

Las Figuras 2, 3 y 4 muestran diferentes instantes de la contracción electromecánica de un ventrículo izquierdo. En todas las figuras, a la derecha se ve un corte longitudinal coloreado por el potencial de activación y con los vectores de velocidad del fluido en el interior; arriba a la izquierda se ve un corte transversal, coloreado por las tensiones de vonMises y abajo a la izquierda, se muestra un acercamiento a la zona del micra, mostrándose los vectores velocidad del fluido.

4. Conclusiones y líneas futuras

Este trabajo introduce un modelo de 3 campos fluido-electromecánico, en que la interacción entre la electrofisiología, la mecánica muscular y la dinámica de la sangre dentro de las cavidades cardíacas es simulada. El modelo resultante permite abrir grandes horizontes en cardiología computacional

En las líneas futuras, aparte de la mejora de todos los componentes en eficiencia, precisión y robustez, se buscará acercar el modelo hacia aplicaciones de biomedicina.

Referencias

[1] Vázquez, M., Houzeaux, G., Koric, S., Artigues, A., Aguado-Sierra, J., Arís, R., ... & Taha, A. (2016). Alya: Multiphysics engineering simulation toward exascale. *Journal of Computational Science*.

[2] ten Tusscher KH1, Noble D, Noble PJ, Panfilov AV. A model for human ventricular tissue. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004 Apr;286(4):H1573-89.

[3] FitzHugh R. (1961) Impulses and physiological states in theoretical models of nerve membrane. *Biophysical J*. 1:445-466

[4] Nagumo J., Arimoto S., and Yoshizawa S. (1962) An active pulse transmission line simulating nerve axon. *Proc. IRE*. 50:2061-2070.

[5] Lafortune, P., Arís, R., Vázquez, M., & Houzeaux, G. (2012). Coupled electromechanical model of the heart: parallel finite element formulation. *International journal for numerical methods in biomedical engineering*, 28(1), 72-86.

Análisis de la refusión superficial por láser de aleaciones Ti-Nb sinterizadas para aplicaciones biomédicas

J. M. Rodríguez Perez¹, J. B. Fogagnolo¹, A. Amigó Mata², A. Vicente Escuder², V. Amigó Borrás²

¹ Departamento de Engenharia de Manufatura e Materiais, Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil, fogagnolo@fem.unicamp.br

² Instituto de Tecnología de Materiales, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, anamma@posgrado.upv.es, avicente@mcm.upv.es, vamigo@mcm.upv.es

Resumen

El interés en las aleaciones Ti-Nb para aplicaciones ortopédicas se debe a su excelente resistencia mecánica y biocompatibilidad, sabiendo que el módulo elástico del material se puede controlar con la variación del contenido de niobio de la aleación. Existen diversos procesos de fabricación para la obtención de estas aleaciones que consiguen diferentes fases con diferentes propiedades. La pulvimetalurgia, como técnica de obtención, resulta interesante por el ahorro de material y su economía en grandes series. Sin embargo, presenta algunos inconvenientes inherentes al proceso, como porosidad, que merma las propiedades mecánicas y la resistencia a fatiga. Una solución a dicho problema es explorar la refusión mediante técnicas láser de la superficie, obteniendo un cierre completo de la porosidad en la superficie. El objetivo de nuestro trabajo es analizar el efecto de la refusión superficial mediante láser de aleaciones de titanio con diferentes contenidos de niobio, obtenidas por pulvimetalurgia, mediante la observación de su microestructura y las propiedades mecánicas de las probetas. La adición de niobio incrementa la cantidad de fase beta estabilizada aunque aparezca una mayor falta de difusión con el incremento del mismo. La refusión por láser cierra la porosidad abierta y no provoca agrietamiento de la capa fundida, presentando una estabilidad física y una excelente uniformidad en su espesor. Las microestructuras resultantes son dendríticas y direccionadas en sentido perpendicular a la superficie. La zona afectada por el calor es muy pequeña y no modifica sustancialmente la microestructura de las piezas de partida.

1. Introducción

La aplicación de las aleaciones de titanio en el campo biomédico está bastante extendida debido a sus excelentes propiedades y su bajo peso específico. De entre las principales familias, las aleaciones Ti-Nb presentan un gran interés al tener elevadas propiedades con un bajo módulo de elasticidad, una gran biocompatibilidad y elevada resistencia a la corrosión [1-3]. Según el contenido de Nb y del tratamiento termo-mecánico utilizado en la obtención de las aleaciones se obtienen diferentes fases [4,5]. La estabilización de la fase β (BCC, cúbica centrada en el cuerpo) disminuye el valor del módulo elástico aproximándolo al del hueso (entre 10-30 GPa) [1,6]. Por ese motivo, la adición de elementos que estabilicen la fase beta es de gran interés. Si además, el elemento de aleación presenta una elevada biocompatibilidad, mejor, puesto que se ha demostrado

que el uso de elementos como Al o V presentan cierta toxicidad y pueden producir algunos problemas clínicos [7].

El uso de la pulvimetalurgia, como proceso de fabricación, presenta ventajas como el ahorro de material y mecanizado posterior. Pero presenta algunos inconvenientes, como porosidad, falta de difusión, crecimiento del grano o transformación a fase alfa (HC, hexagonal compacta) en borde de grano [8]. Sin embargo la porosidad es un inconveniente importante cuando estamos hablando de implantes, puesto que la vida a fatiga de los mismos se ve muy comprometida por la existencia de porosidad superficial. Se propone el uso del láser para la refusión superficial con intención de generar una superficie uniforme y sin defectos. Es un estudio que se debe iniciar mirando el efecto del láser en la microestructura, ya que las altas tasas de enfriamiento producidas durante el procesado láser producen la formación de fases fuera del equilibrio, el refinamiento de la microestructura o redistribución del producto segregado, entre otros [9]. Por ese motivo, El objetivo de nuestro trabajo es analizar el efecto de la refusión por láser de aleaciones de titanio con diferentes contenidos de niobio, sinterizadas, mediante la observación de su microestructura y las propiedades mecánicas de las probetas.

2. Materiales y métodos experimentales

Las muestras se han obtenido partiendo de polvos elementales de titanio (pureza 99.7 y tamaño $<55\mu\text{m}$) y de niobio (pureza 99.9 y tamaño $<45\mu\text{m}$) suministrados por Atlantic Equipment Engineers. Se ha utilizado el sistema de mezcla elemental de polvos para la obtención de las aleaciones Ti5Nb, Ti15Nb, Ti25Nb y Ti35Nb (% en peso). Posteriormente se han compactado a 600MPa utilizando una matriz rectangular de 30x12mm en una prensa hidráulica, Instron modelo 1343, para obtener un espesor aproximado de 5 mm. Las probetas se han sinterizado en un horno de alto vacío Carbolite HVT 15/75/450, en alto vacío $<10^{-4}$ mbares, a una temperatura máxima de 1250 °C durante 3 horas, y con una velocidad de calentamiento de 10 °C/min. El enfriamiento se realizó en horno. Se ha medido el contenido de oxígeno de las

muestras sinterizadas, utilizando un medidor de gas LECO TC400.

Para realizar la modificación superficial mediante la refusión superficial por láser, la superficie de las muestras fue lijada manualmente con papel de SiC hasta una rugosidad de 1500 y limpiadas con acetona con intención de eliminar cualquier residuo que pudiera haber a nivel superficial. La refusión por láser se ha realizado con un equipo IPG Photonics, modelo YLR-500-MM-AC-Y11 del laboratorio de Processamento de Materiais da UNICAMP. Se ha utilizado un ángulo de incidencia del láser de 105° con relación al sustrato y una distancia de 1mm por encima del foco. Se ha utilizado una atmósfera protectora de argón de alta pureza, con un flujo de 10L/min. Los parámetros de procesamiento utilizados han sido 200W de potencia del haz láser, 400mm/min de velocidad de barrido y una superposición del 50% del ancho de un cordón individual. La caracterización microestructural se ha realizado mediante microscopía electrónica de barrido, EVO-MA15 de Zeiss, equipada con microanálisis EDS. La difracción de rayos X, X-Pert Pro de Panalytical, se ha utilizado para la identificación de las fases. La preparación de muestras se ha realizado según la norma ASTM E3 (2001). Las propiedades mecánicas se obtienen mediante ensayos de nanodureza, CSM Instruments modelo TTX-NHT, utilizando una punta berkovich, aplicando ciclos de carga/descarga con una carga máxima de 200mN, separación entre indentaciones de 0.3mm y utilizando un coeficiente de Poisson de 0.34 para obtener los resultados de módulo elástico del material. Se han realizado indentaciones en tres zonas diferenciadas la zona fundida (ZF), la zona térmicamente afectada (ZTA) y la base pulvimetalúrgica.

3. Resultados

La microestructura inicial, tras la sinterización de las muestras, de las aleaciones Ti-Nb presenta variaciones con el contenido de Nb. En la Figura 1, se observa el cambio de fase α , con una pequeña cantidad de β en borde de grano, para el 5% de Nb, a una fase β con cierto contenido en α en borde de grano [8], para contenidos más elevados.

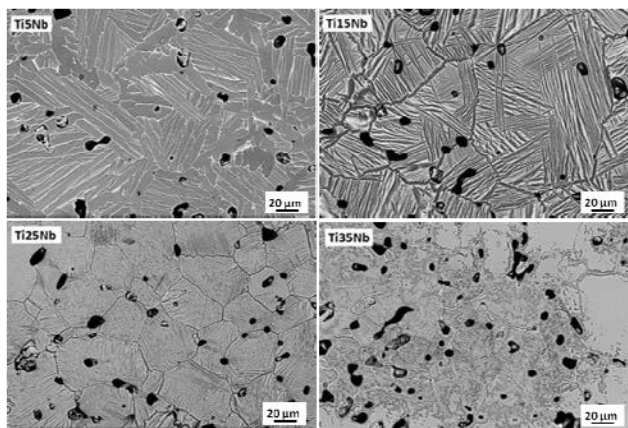


Figura 1. Microestructura de las aleaciones procesadas Ti5Nb, Ti15Nb, Ti25Nb y Ti35Nb tras la sinterización a 1250°C, Imagen de electrones retrodispersados

El análisis de oxígeno nos muestra un incremento del contenido de oxígeno debido al procesamiento del material a valores cercanos a 0.7% de O₂, por encima de los valores contemplados en norma. La adición de una mayor cantidad de elemento de aleación produce un incremento de la porosidad, (Tabla 1).

Aleación	Ti5Nb	Ti15Nb	Ti25Nb	Ti35Nb
% porosidad media	5.02 ±1.07	6.18 ±1.05	8.20 ±0.37	10.27 ±0.69

Tabla 1. % de porosidad media obtenido para las diferentes composiciones Ti-Nb obtenidas

Tras la aplicación de la refusión superficial por laser se obtiene un cierre completo de la porosidad y una buena estabilidad de la capa refundida en la que no se aprecia ni agrietamientos, ni desprendimientos de la misma. En la Figura 2 se observa la estabilidad estructural de la capa con una ausencia de porosidad. También se puede observar que debido a la elevada velocidad del procesamiento láser no se consigue homogenizar el Nb cuando su contenido es elevado, observado en el procesamiento de la aleación Ti35Nb.

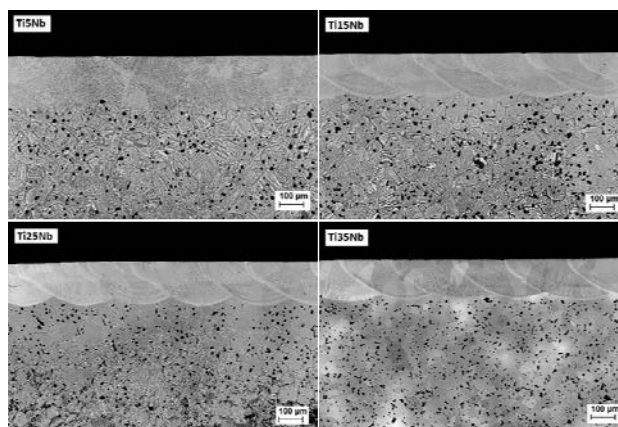


Figura 2. Detalle de la refusión superficial de las aleaciones Ti5Nb, Ti15Nb, Ti25Nb y Ti35Nb, imagen de electrones retrodispersados

El espesor de la capa fundida por láser es bastante homogéneo (Tabla 2), presentando la mayor profundidad para la aleación Ti5Nb y estabilizándose alrededor de 180μm para el resto de aleaciones.

Aleación	Ti5Nb	Ti15Nb	Ti25Nb	Ti35Nb
Profundidad (μm)	210	190	180	180

Tabla 2. Profundidad de la zona refundida por láser

Debido a la naturaleza del procedimiento, el enfriamiento sufrido tras el refundido láser es rápido, produciendo algunos cambios microestructurales en la región tratada. La Figura 3 nos muestra las fases obtenidas en DRX para la superficie sobre la que se realiza la refusión laser. Los resultados de DRX nos indican que para contenidos inferiores al 15% en peso de Nb la fase estabilizada es α/α' [10]. Esto cambia para el 25% de Nb, ya que se

estabiliza la fase α'' martensítica debido al enfriamiento rápido [4,5,9], con una pequeña cantidad de fase β . A partir de un contenido del 35% de Nb se obtiene una estabilización completa de la fase β en la capa fundida [2].

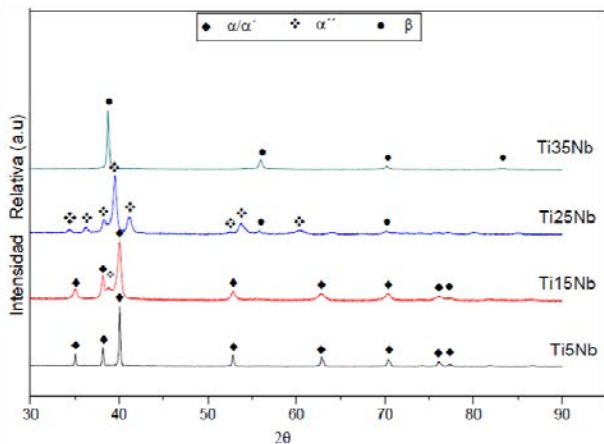


Figura 3. DRX de la superficies de refusión de las aleaciones Ti5Nb, Ti15Nb, Ti25Nb y Ti35Nb

La microestructura obtenida en la zona fundida es dendrítica, con una dirección de solidificación perpendicular a la superficie. En la Figura 4 se muestran detalles de la microestructura de la superficie refundida. Para la muestra de composición Ti25Nb y Ti35Nb se observan las dendritas de solidificación rápida de fase β en la dirección de enfriamiento. Para la composición Ti25Nb se observa la aparición de agujas muy finas de α'' que nos indicaba la DRX. Las composiciones por debajo del 15% en peso de Nb presentan una microestructura widmstätten de fase α/α' .

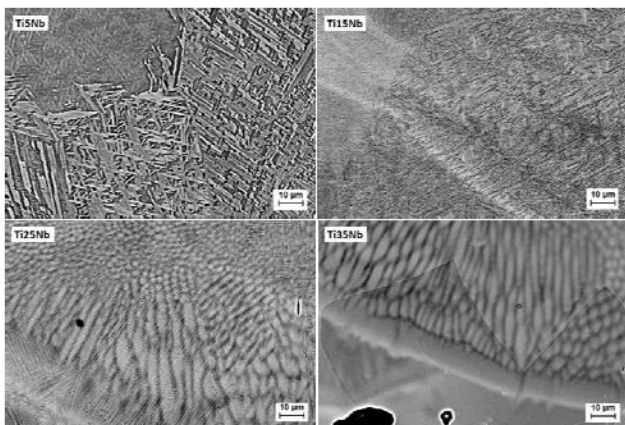


Figura 4. Microestructura dendrítica de la sección transversal de la refusión de las aleaciones Ti5Nb, Ti15Nb, Ti25Nb y Ti35Nb, obtenidas mediante electrones retrodispersados

En la Figura 2, se puede ver que la zona fundida presenta un espesor homogéneo y un final de la zona fundida muy bien definido en todos los casos excepto para la aleación Ti5Nb en el que no podemos observar la superposición de los cordones para la formación de la capa refundida. Esto también se muestra con la diferente microestructura observada en la Figura 4 para la zona fundida, donde para contenidos pequeños de elemento de aleación se observa

una formación de agujas tipo cesta, que debido al enfriamiento rápido son de fase α' pero que la difracción no es capaz de distinguir de la fase α , siendo identificadas como fase α/α' .

Las propiedades mecánicas estudiadas mediante Nanoindentación se recogen en la tabla 3. Los valores obtenidos de nanodureza son semejantes en todos los casos, con una ligera disminución cuando se obtiene fase β y un valor superior cuando aparece fase α'' en la zona fundida.

Aleación	Ti5Nb	Ti15Nb	Ti25Nb	Ti35Nb
Nanodureza (GPa) ZF	4.1 ±0.2	4.3 ±0.1	4.4 ±0.1	3.9 ±0.1
Nanodureza (GPa) ZTA	4.2 ±0.3	4.3 ±0.1	3.9 ±0.3	4.1 ±0.1
Nanodureza (GPa) PM	3.8 ±0.2	4.1 ±0.2	3.6 ±0.3	3.8 ±0.3

Tabla 3. Valores de nanodureza para las diferentes zonas, ZF(zona fundida), ZTA (zona térmicamente afectada) y PM (base pulvimetalúrgica) para las diferentes aleaciones

La tendencia mostrada por el módulo elástico en la figura 5 es dependiente del contenido de Nb en la aleación y por tanto de las fases presentes en cada caso. Se ha obtenido un valor alrededor de 130GPa para el contenido más bajo de Nb (5% en peso) que va disminuyendo con el incremento del porcentaje en peso de Nb obteniendo valores cercanos a 80GPa cuando la fase obtenida es β . Sólo en el caso de la zona térmicamente afectada de la aleación Ti35Nb, se ha obtenido un módulo de 90GPa, 10GPa superior al de las otras zonas, por la aparición de la fase α'' identificada mediante difracción.

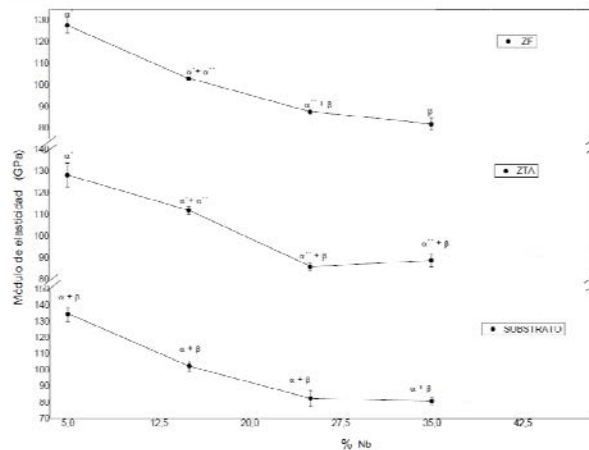


Figura 5. Evolución del módulo elástico en las tres regiones ZF(zona fundida), ZTA (zona térmicamente afectada) y SUBSTRATO (base pulvimetalúrgica) de las aleaciones Ti5Nb, Ti15Nb, Ti25Nb y Ti35Nb

Los valores de módulo en la zona del sustrato, pulvimetalúrgica, son ligeramente inferiores cuando la estabilización de la fase β es importante (a partir del 25% en peso de Nb) a causa del enfriamiento rápido que se produce en la refusión láser ya que estabiliza la fase α' .

Ello es coincidente cuando se realizan tratamientos térmicos en productos deformados plásticamente [4] o cuando se obtienen por láser aleaciones con alto contenido de Nb [11].

4. Conclusiones

La evolución de la microestructura, de las muestras pulvimetalúrgicas, está ligada a la variación del contenido de Nb, obteniendo una microestructura $\alpha+\beta$ en la que se incrementa progresivamente el contenido de fase β conforme aumenta el porcentaje en peso de Nb.

Se observa una falta de difusión que es más evidente con el incremento de %Nb en la aleación, que para contenidos del 35% de Nb, la refusión superficial por láser no es capaz de homogeneizar.

La zona de refusión láser es homogénea en sus dimensiones, presentando una buena estabilidad física, eliminando completamente la porosidad de la zona tratada y sin la aparición de grietas.

La microestructura obtenida después de la refusión láser es α/α' para contenidos inferiores al 15% de Nb, α'' para el 25% de Nb y β para contenidos superiores.

Los resultados de nanodureza se mantienen alrededor de 4GPa en todos los casos. En cambio el módulo de elasticidad disminuye con la adición de Nb, manteniéndose semejante para las tres regiones de estudio, en cada caso, alcanzándose valores de 80GPa cuando se consigue la estabilización completa de la fase β , lo que permite esperar una mejor comportamiento frente a la osteointegración.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Ministerio de Economía y Competitividad de España por el proyecto de investigación MAT2014-53764-C3-1-R. A la Generalitat Valenciana por el proyecto PROMETEO/2016/040. A la Comisión Europea por los fondos FEDER para la adquisición de equipamiento.

Referencias

- [1] Geetha M, Singh AK, Asokamani R, Gogia AK. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review. *Progress in Materials Science*, vol 54, sup 3, 2009, pp 397-425 (ISSN: 0079-6425).
- [2] Guo S, Zhang J, Cheng X, Zhao X. A metastable β -type Ti-Nb binary alloy with low modulus and high strength. *Journal of Alloys and Compounds*, vol 644, 2015, pp 411-5 (ISSN: 0925-8388).
- [3] Banerjee D, Williams JC. Perspectives on titanium science technology. *Acta materialia*, vol 61, sup 3, 2013, pp 844-79 (ISSN: 1359-6454).
- [4] Lopes ESN, Cremasco A, Afonso CRM, Caram R. Effects of double aging heat treatment on the microstructure, Vickers hardness and elastic modulus of Ti-Nb alloys. *Materials Characterization*, vol 62, sup 7, 2011 pp 673-80 (ISSN: 1044-5803).

- [5] Mantani Y, Tajima M. Phase transformation of quenched α'' martensite by aging in Ti-Nb alloys. *Materials Science and Engineering: A*, vol 438, sup 440, 2006, pp 315-9 (ISSN: 0921-5093).
- [6] Abdel-Hady Gepreel M, Niinomi M. Biocompatibility of Ti-alloys for long-term implantation. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, vol 20, 2013, pp 407-15 (ISSN: 1751-6161).
- [7] Österle W, Klaffke D, Griepentrog M, Gross U, Kranz I, Knabe Ch. Potential of wear coating on Ti-6Al-4V for artificial hip joint bearing surfaces. *Wear*, vol 264, 2007, pp 505-17 (ISSN: 0043-1648).
- [8] Teixeira J, Appolaire B, Aeby-Gautier E, Denis S, Bruneseaux F. Modeling of the effect of the beta phase deformation on the alpha phase precipitation in near-beta titanium alloys. *Acta Biomaterialia*, vol 54, 2006, pp 4261-71 (ISSN: 1359-6454).
- [9] Pelletier J, Renaud L, Fuoquet F. Solidification Microstructures Induced by laser surface alloying: influence of the substrate. *Materials Science and Engineering A*. Vol 134, 1991, pp 1283- 7 (ISSN: 0921-5093).
- [10] Bönisch M, Calin M, Waitz T, Panigrahi A, Zehetbauer M, Gebert A, Skrotzki W, Eckert J. Thermal stability and phase transformations of martensitic Ti-Nb alloys. *Science and Technology of Advanced Materials*. Vol 14, 2013, 9 pp.
- [11] Fogagnolo JB, Rodrigues AV, Lima MSF, Amigó V, Caram R. A novel proposal to manipulate the properties of titanium parts by laser surface alloying. *Scripta Materialia*. vol 68, 2013, pp 471-4 (ISSN: 1359-6462).

Microstructure and mechanical properties of sintered Ti Binary alloys for dental applications

H. Yilmaz Atay^{1*}, M Haro Rodríguez², A. Amigó Mata², A. Vicente Escuder² and V. Amigó Borrás²

¹ İzmir Katip Çelebi University, Department of Material Science and Engineering, 35620 Çiğli İzmir Turkey, hgulyilmaz@gmail.com

² Universidad Politécnica de Valencia, Departamento de Ingeniería Mecánica y de Materiales, 46022 Valencia, Spain monharod@upvnet.upv.es, anamma@posgrado.upv.es, avicente@mcm.upv.es, vamigo@mcm.upv.es

Abstract

Biomaterials have shown rapid growth in the field of elderly population demands with the prolongation of human life. One of those biomaterials, titanium, has excellent properties and biocompatibility though it may cause weakening in the structures due to its higher stiffness. In this study, powder metallurgy process was used to produce Ti-Cr, Ti-Mo and Ti-Cu metal alloys to overcome this problem. Metal powders were mixed by mechanical alloying. After pressing and sintering, alloys structures were investigated. Characterizations were carried out by size analyzer, SEM-EDX, optical microscope and three points bending test.

1. Introduction

The demand for biomaterials is rapidly increasing as the world population is getting older and those old people have a higher risk of hard tissue failure. Biomaterials are the materials used for making the structures or implants to replace the lost or diseased biological structure. Thereby they help in improving the quality of life of the elders [1,2]. In this manner, titanium alloys have become very attractive as one of the biomaterials due to their light weight, high bio-corrosion resistance, biocompatibility and mechanical properties. Actually, pure titanium has also established a reputation for excellent biocompatibility as a dental metal, being suitable for prosthetic dental applications. However, some inherent problems must be overcome for titanium to be used successfully such as its stiffness, high melting temperature and high reactivity with oxygen and impurities at elevated temperatures [3, 4]. Producing titanium alloys can be one of the solutions to alter its properties, namely to improve strength, high-temperature performance, creep resistance, weldability and formability [4]. The alloys can exhibit solid solution hardening, better ductility and have lower fusion temperatures than pure titanium [5]. Producing titanium alloys can be useful for reducing stiffness valuations. In this study, Cr, Mo and Cu were chosen for producing binary Ti alloys as alternatives capable of satisfactorily replacing the traditionally used alloys. Those elements are known for increasing of stabilizing β phase of titanium. These phases of titanium alloys are more appropriate for bio-applications. The presence of titanium body centred cubic crystal structure (β phase) at room temperature leads to decrease of elastic modulus and improve the stress shielding problem, therefore β type titanium alloys could be produced with

lower modulus of elasticity and greater strength [6]. Copper also offers the possibility to be bactericidal

Ti-Cr alloys were reported to have high tensile strength and good ductility for dental casting alloys. It was observed that the hardness of the Ti-Cr alloys became greater as the Cr content increased [7]. The addition of Mo decreases the elastic modulus of the alloys. Also, Mo is a refractory element with a high melting point, and the addition of Mo can also enhance the strength and abrasion resistance of Ti-based alloys [8]. The fusion temperature of Ti-Cu alloy decreases with an increase in the amount of copper [9]. Titanium alloyed with a small amount of copper is reported to have adequate biocompatibility and corrosion resistance for dental use [10].

Regarding the production method, powder metallurgy was used. This is a solid phase technique which can provide suitable structures due to titanium's high melting point and high reactivity. Also, porous networks in the materials can provide lower stiffness. Mechanical alloying was used to mix the powders in desired ratio. After pressing and sintering different combinations of titanium alloys were produced with Cr, Mo and Cu elements. Characterizations of the specimens were carried out, SEM-EDX, optical microscope and three points bending test.

2. Materials and Methods

The experimental program was composed of mixing, mechanical alloying of powders, and press and sinter process. Prior to the sinter processes, elemental powders mixtures were prepared as the following: Ti5Cr, Ti9Cr, Ti13Cr, Ti6Mo, Ti12Mo, Ti21Mo, Ti5Cu, Ti7Cu and Ti12Cu in weight %. Three alloys were prepared for each composition ratio. Mechanical alloying was performed in a planetary ball mill model PM 400/2 Retsch using a rotation speed of 300 rpm.

For the preparation of the alloys, pure titanium, chromium, molybdenum and copper powders were used, as are presented in Table 1.

Powder	Supplier	Purity (%)	Size (mesh)	Granulometry (μm)
Titanium	Phelly	99.7	-325	29
Chromium	Alfa Aesar	99.8	-325	29
Molybdenum	AEE	99.9	-250	4
Copper	Alfa Aesar	99.9	-250	4

Table 1. Ti, Mo, Cr and Cu powder characteristics

The ball to powder weight ratio was 10:1. The milling batch had a mass of 20 g for each run. To prevent an excessive temperature rise of the powder during milling, milling was stopped at 45 min, and then the grinding bowl was allowed to cool for 20 min. To minimize powder oxidation, milling was carried out under an argon atmosphere. After complete mixing of the powders they were mechanically pressed. The die has a rectangular shape with dimensions of 30×12 mm. It was filled with approx. 7 g of powder with the height of 5 mm. Compaction was applied in hydraulic press, Instron model 1343, which has a range of use of ± 500 kN for static trials. A pressure of 600MPa is used for compaction of test specimens. After obtaining the green products. Sintering was performed in a high vacuum Carbolite model HVT15/75/450 tubular furnace. Sintering cycle of process for Ti-Cr and Ti-Mo alloys was as the following: a rise $15^\circ\text{C} / \text{min}$, to reach them 750°C that is keep ones 30 min to get a homogenization of the temperature, continue with a rise to $10^\circ\text{C} / \text{min}$, until them 1250°C that is maintain 180 min and then the cooling in oven. For Ti-Cu alloy the sintering temperature was 950°C .

The porosity is estimated by the Archimedes method for open and closed porosities, is obtained thereby turn relative densities of the material.

Pore diameter and circularity were measured by optical Microscopy.

The bending test is performed with rectangular samples $30 \times 12 \times 5$ cm, at a speed of $1\text{mm} / \text{min}$, obtaining the stress, strain and flexural modulus of each of the alloys studied. The elastic modulus was obtained by ultrasound methodology.

3. Results and Discussions

Mechanical alloying makes the powders show a homogeneous distribution of the alloying elements, as shown in Figure 1 for three of the alloys obtained.

As shown in Figure 1 the addition of Cu is greater intimacy with Ti. It is mainly due to the higher ductility of this element. In the case of Cr, with a similar size to Ti, the particles are randomly distributed within. Unlike the case with the Mo addition of higher resistance than Ti, Figure 1C, and lower particle size, these are preferably distributed on the surface of the particles of Ti. Therefore we can say that the TiMo has a better mixed but compaction is not as good as the TiCr and TiCu.

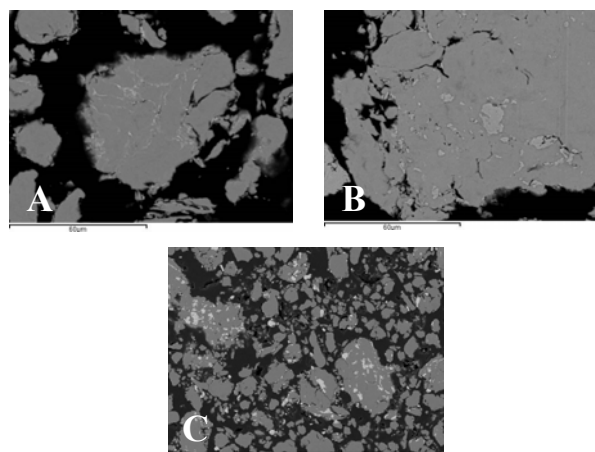


Figure 1. Backscattered image of those powder mixtures, A)Ti5Cu, B)Ti5Cr, C)Ti12Mo

By studying the properties of the sintered, Table 2, we see that the TiCu alloy, due to its greater plasticity, has lower porosity than the other alloys. Furthermore, its porosity decreases with increasing percentage of alloying. The pore size obtained is of smaller diameter and very close to the spherical shape.

By contrast in the alloys of Cr and Mo, the porosity is greater and the pores have a larger diameter and more elongated shapes. This is due to the greater hardness of alloying and its worst compaction of the mixture.

Alloys	Exp. Density (g/cm^3)	Relative Density (%)	Pore ϕ (μm)	Pore Circularity
Ti6Mo	4.11	88.12 ± 0.69	3.66	0.86
Ti12Mo	4.50	93.21 ± 0.88	2.22	0.95
Ti21Mo	4.81	94.06 ± 0.43	1.94	0.97
Ti5Cr	4.25	92.62 ± 0.88	4.32	0.85
Ti9Cr	4.29	92.00 ± 0.73	2.65	0.92
Ti13Cr	4.39	92.65 ± 0.72	3.37	0.88
Ti5Cu	4.43	95.90 ± 0.23	2.25	0.93
Ti7Cu	4.58	98.04 ± 0.23	1.64	0.99
Ti12Cu	4.78	99.73 ± 0.09	1.58	0.99

Table 2. Estimations of pores and densities of the alloys

When analyzing the evolution of the relative density, Figure 2 shows that for the three alloys the values are very close. For TiCu and TiMo alloys, your density increases with increasing the amount of element. However the

density obtained in the TiCr alloys practically remain the same and about 92%. Ti₂Cu intermetallic formation decreases the porosity of the TiCu alloys, which show values 1 to 2%, Figure 3A.

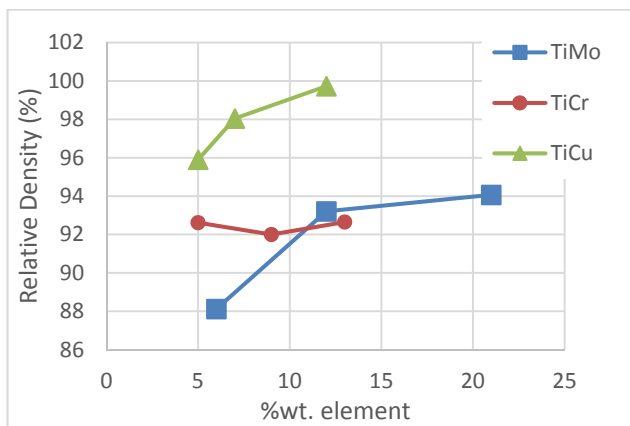


Figure 2. Influence density percentage of alloying

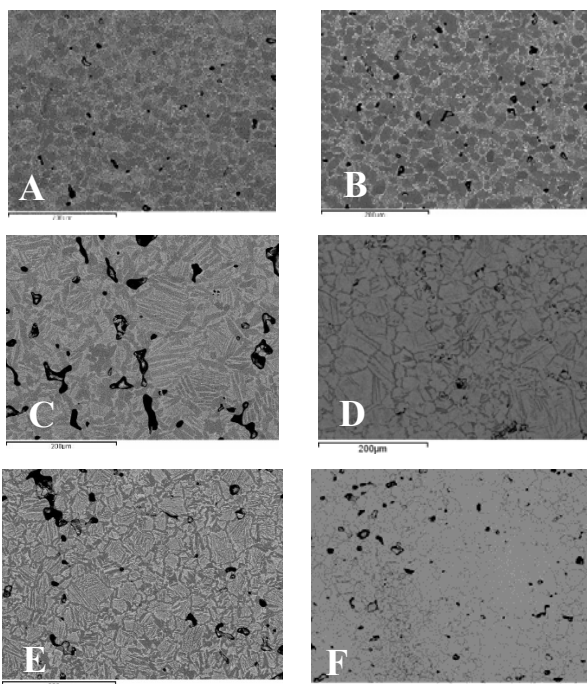


Figure 3. SEM image phase distribution of the alloys, A)Ti5Cu, B)Ti12Cu, C)Ti5Cr, D)Ti13Cr, E)Ti6Mo, F)Ti21Mo.

The microstructure in the TiCu alloys correspond to α grains intermetallic Ti₂Cu by cleaving the beta phase at elevated temperature. This microstructure is coincident with the obtained DRX, Figure 4. To 5% by weight of Cu, the microstructure corresponds to 90% phase. By increasing the content of Cu, Figure 3D, the amount of α phase decreases to 78%, with formation eutectoid Ti₂Cu + α .

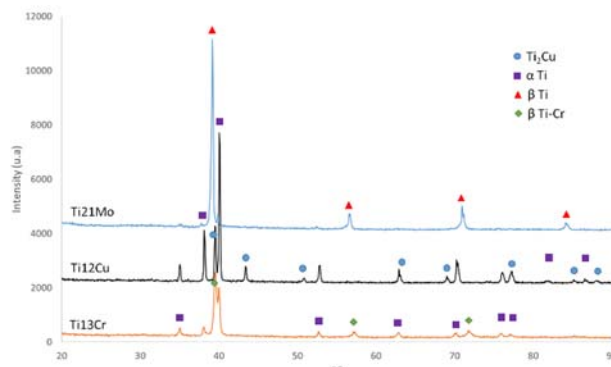


Figure 4. Diffraction patterns of Ti21Mo, Ti12Cu and Ti13Cr with phase identification

In the TiCr and TiMo systems microstructure obtained is basket type formed by α + β phases. In the alloys TiCr appears 75% α phase, for content of 5% Cr, which decreases to 20% when the Cr content is 13%, Figure 3D. Similarly for Mo alloys α phase content decreases from 57%, when the Mo content is 6%, 9%, when the content of Mo is 21%. As stabilization of β phase by the addition of Mo is observed is greater than the addition of Cr with microstructures β grains with formation of the α phase in grain boundary, Figure 3F. The formation of this microstructure α + β in the TiCr and TiMo alloys is confirmed by X-ray diffraction, Figure 4 as reported Syarif et al. [11], Lu et al. [8]. and Hsu et al. [7].

The results of bending tests are seen in Figure 5.

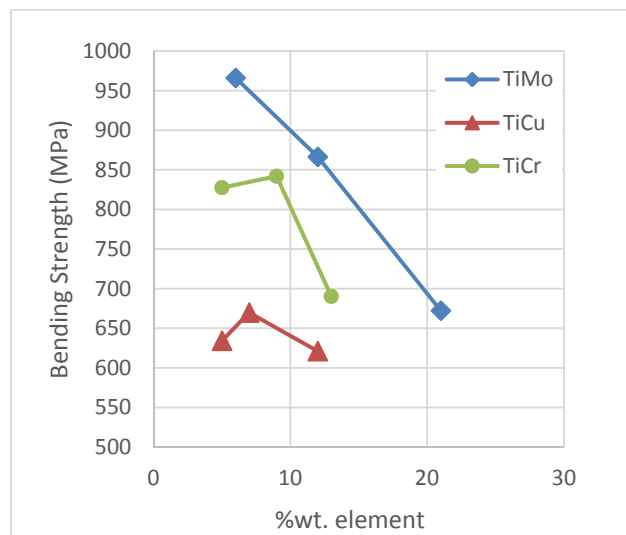


Figure 5. Maximum bending strength vs. element

The Ti-Cu alloys have the lowest bending strength, around 650 MPa. However, maximum bending strength of the TiCr and TiMo alloys decreased with increasing alloying element content. In the latter two systems for the lower contents of Cr or Mo have bending strength of 830 and 960 MPa respectively, decreasing to values of 670-680 MPa for higher content tested, Figure 5. This significant reduction in the maximum bending strength of the TiCr and TiMo

alloys can be explained by the stabilization of the β phase [11]. Ductility obtained in the three systems is insufficient for applications where elongation is necessary. The maximum value obtained is 4.2% TiCr and 2-3% for the other alloys.

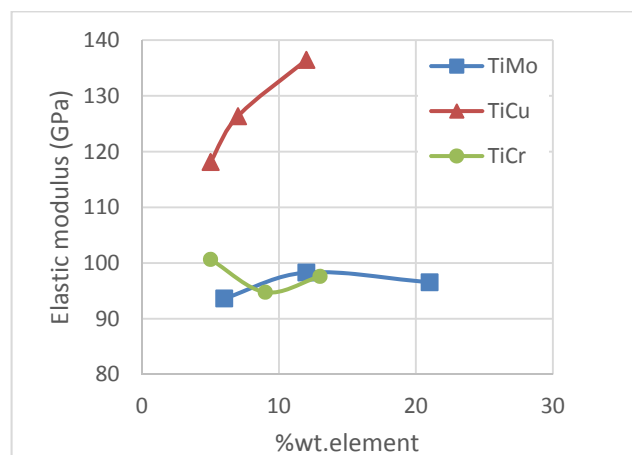


Figure 6. Elastic Modulus vs. %wt. element

A dual behavior is obtained for elastic modulus analyzed by ultrasound techniques. While TiCr and TiMo systems is slightly lower than the commercially pure Ti, remains around 95-98 GPa. The TiCu system substantially increases the elastic modulus from 118 GPa to higher values 135 GPa for 13% wt. of Cu, Figure 6.

4. Conclusions

The alloys studied are two trends in behavior:

- The TiCu powder after mechanical alloying presents more intimate union with ti particles than the other powders.

- TiCr and TiMo systems obtain two phases; α phase (dark) and β phase (light). A mixture of α phase and Ti_2Cu intermetallic is observed on the microstructure of TiCu alloys.

- In all cases β phase or Ti_2Cu increase with higher content of alloying element.

- The bending strength decreases generally, with the increasing of elements addition.

- Elastic modulus decreases with Cr and Mo addition due to β phase establishment. However, Cu addition increases the elastic modulus regarding Ti CP due to the formation of intermetallic Ti_2Cu .

Acknowledgments

The authors thank the Ministerio de Economía y Competitividad of Spain for the research project MAT2014-53764-C3-1-R. A European Commission by FEDER funds for the purchase of equipment. The

Generalitat Valenciana by the PROMETEO/2016/040 project.

References

- [1] Niinomi M, Nakai M, Hieda J. Development of new metallic alloys for biomedical applications. *Acta Biomaterialia*, vol 8, 2012, pp 3888–903.
- [2] Geetha M, Singh A.K, Asokamani R, Gogia A.K. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants – A review. *Progress in Materials Science*, vol 54, 2009, pp 397–425.
- [3] Wen-Fu H, Tsung-Yu C, Shih-Ching W, Hsueh-Chuan H. Mechanical properties and deformation behavior of cast binary Ti–Cr alloys. *Journal of Alloys and Compounds*, vol 468, 2009, pp 533–8.
- [4] Lautenschlager E.P, Monaghan P. Titanium and titanium alloys as dental materials. *International Dental Journal*, vol 43, sup 3, 1993, pp 245–53.
- [5] Okuno O, Hamanaka H. Application of beta titanium alloys in dentistry. *Dentistry Jpn.* vol 26, 1989, pp 101–4.
- [6] Amigó A, Zambrano JC, Martínez S, Amigó V. Microstructural characterisation of Ti-Nb-(Fe-Cr) alloys obtained by powder metallurgy. *Powder Metallurgy*, vol 57, , sup 5, 2014, pp 316-19.
- [7] Hsu H.C, Ho W.F, Chiang T.Y, S.C. *Structure and gridability of dental Ti-Cr alloys*. *Journal of Alloys and Compounds*, vol 476, 2009, pp 817-25.
- [8] Lu X, Sun B, Zhao T. et al. *Int J Miner Metall Mater*, vol 21, 2014, pp 479.
- [9] Degischer H.P, Kriszt B. *Handbook of Cellular Metals: Production, Processing, Applications*. Wiley-VCH, 2002, pp. 22–184.
- [10] Kikuchi M, Takada Y, Kiyosue S, Yoda M, Woldu M, Cai Z, Okuno O, Okabe T. Mechanical properties and microstructures of cast Ti-Cu alloys. *Dental Materials*, vol 19, sup 3, 2003, pp 174-81.
- [11] Syarif J, Rohmannudin T.n, Omar M.Z, Sayuri Z, Harjanto S. Stability of the beta phase in TiMoCr alloy fabricated by powder metallurgy. *Journal of Mining and Metallurgy, Section B: Metallurgy. Vol 49, sup 3, pp 285-92.*

Método de preparación de aleaciones Ti-Co para aplicaciones biomédicas

B. Enguix Chiral¹, A. Amigó Mata¹, M.V. Haro Rodríguez¹, A. Vicente Escuder¹, M.F. Solá Ruiz²

¹UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA, INSTITUTO DE TECNOLOGÍA DE MATERIALES.

Camino de Vera s/n, 46022 Valencia. monharod@upvnet.upv.es

¹UNIVERSITAT DE VALÈNCIA, DEPARTAMENTO ESTOMATOLOGIA, FACULTAT DE MEDICINA I ODONTOLOGIA.C/ Gascó Oliag, 1 46010 Valencia. m.fernanda.sola@uv.es

Resumen

El desarrollo de nuevas aleaciones de titanio para aplicaciones biomédicas ha permitido, además de obtener excelentes propiedades mecánicas, disminuir el módulo elástico al obtener las aleaciones en su fase beta. En los últimos años se han incorporado como elementos de aleación aquellos más económicos, como el Fe, Mn, Cr o Co, que además presentan un mayor efecto betágeno. En este trabajo se trata de estudiar el efecto del proceso de obtención de los polvos de Ti y Co para el desarrollo de aleaciones con diferentes contenidos de Co por vía pulvimetalúrgica.

Se utilizan en este caso mezcla elemental de polvos y aquellos obtenidos por aleado mecánico. Las muestras se obtienen por compactación de los polvos y sinterización de las piezas en verde que se caracterizarán microestructuralmente mediante difracción de rayos X, observación en microscopía óptica y electrónica y la determinación de sus propiedades mecánicas mediante de ensayos de flexión y dureza.

Los resultados revelan una diferente microestructura dependiendo del procesado de los polvos con propiedades superiores cuando se utiliza mezcla elemental de polvos frente a polvos aleados mecánicamente, y ello en función del contenido en cobalto. Sin embargo, en ambos casos presentan propiedades prometedoras para su aplicación como biomateriales requiriendo en todo caso de una evaluación de su biocompatibilidad y posible liberación de iones cobalto que como en el caso de las aleaciones Co-Cr-Mo podrían limitar su aplicación en biomedicina.

1. INTRODUCCIÓN

Dentro de las aleaciones para trauma u ortopedia, se aplican fundamentalmente aceros inoxidables, aleaciones CoCrMo y aleaciones de titanio. La superior biocompatibilidad de estas últimas, unida a sus excelentes propiedades mecánicas específicas ha permitido su aplicación en el campo biomédico en los últimos años. Sin embargo, el titanio puro comercial presenta todavía un elevado módulo de elasticidad y una menor resistencia. Es por este motivo que se han desarrollado en las últimas décadas un conjunto de aleaciones de titanio que permitieran mejorar sus propiedades finales [1]. Entre ellas destaca la aleación Ti6Al4V con amplia aplicación en trauma y ortopedia [2]. El hecho de que algunos autores cuestionen esta última aleación, por la posible liberación de V y Al al organismo [3], ha hecho que se hayan

investigado muchas aleaciones β basadas en la adición de Mo o Nb [4].

No obstante, la adición de elementos refractarios, de elevada biocompatibilidad, como el Nb, Ta o Zr en estas aleaciones hace que su fabricación sea muy costosa, tanto por sus elevadas temperaturas de fusión, como sobre todo por sus elevados contenidos en la aleación [5]. Sin embargo, y con el uso de tratamientos térmicos específicos, pueden obtener propiedades mecánicas excelentes y bajos módulos de elasticidad [6].

Un camino seguido por otros autores es el desarrollo de aleaciones con elementos altamente betágenos como el Cr [7] o el Co [8], entre otros. Hsu et col. analizan el efecto de la adición de Cr en aleaciones Ti-5Mo [9], mientras Wang y Welsch evalúan una aleación experimental de Ti-Co para aplicaciones dentales [10, 11]. También se exploran composiciones ternarias Ti-Co-V, por Zhan et al. [12], o el sistema Ti-Co-Zr, por Jiang et al. [13]. Pero en todos los casos se utilizan aleaciones de colada y forja con la dificultad de tener que trabajar siempre en alto vacío o con atmósferas controladas.

La pulvimetalurgia, permite una más fácil obtención de aleaciones complejas pues su procesado requiere de menores cuidados al trabajar siempre en estado sólido lo que implica una menor reacción con la atmósfera. No obstante también se encuentran problemas inherentes al procesado como una falta de difusión de los elementos de adición, o una mayor porosidad que puede mermar las propiedades finales, principalmente frente a fatiga. Algunos investigadores han tratado de minimizar el primer problema utilizando polvos prealeados o aleados mecánicamente [14] o mediante tecnologías de alta densificación como "Spark Plasma Sintering" para minimizar el efecto de la porosidad o conseguir un cierto control en el tamaño de grano final [15]. Sin embargo no existen resultados que puedan indicar la posible resolución de la problemática apuntada, además de acentuar, en el caso del *spark plasma sintering*, la falta de difusión por el escaso tiempo de calentamiento.

En el presente trabajo se desarrollan aleaciones Ti-Co mediante mezcla elemental de polvos y aleación mecánica con el objetivo de su caracterización y posible aplicación

como materiales biomédicos, mediante técnicas pulvimetalúrgicas.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Los polvos de titanio y cobalto se han suministrado por Atlantic Equipment Engineering (USA) con las características recogidas en la tabla 1.

Tabla 1. Propiedades de los polvos elementales y aleados mecánicamente.

Polvo	Pureza (%)	Granulometría (µm)		
		d(10)	d(50)	d(90)
Titanio	99.7	11.1	29.2	55.9
Cobalto	99.8	7.9	15.1	28.2

Con estos elementos se han obtenidos tres aleaciones mediante el procesamiento de polvos elementales y aleados mecánicamente: Ti3Co, Ti6Co y Ti9Co.

La aleación mecánica se ha realizado en un molino planetario Retsch PM400/2 a 180 rpm durante 52 minutos y una relación de masa polvo/bolas 1/15. Las mezclas de polvos elementales se han compactado uniaxialmente a 600 MPa y los aleados mecánicamente, debido a su mayor acritud, a 900 MPa. Ambos compactos se han sinterizado en horno de vacío ($<10^{-4}$ mbares) a 1250 C durante 3 horas.

La difracción de rayos X se ha realizado en un equipo Bruker D2PHASER utilizando 30 kV y un paso de 0.05° cada 10 segundos.

La densidad y porosidad total se ha determinado mediante el método de Arquímedes. La forma y tamaño de los poros se ha evaluado por microscopía óptica con un microscopio Nikon Eclipse LV100 y la microestructura mediante microscopía electrónica de barrido en un microscopio JEOL JSM6400 equipado con un analizador de energías dispersivas de rayos X de Oxford Instruments Ltda.

La microdureza se ha evaluado con equipo Shimadzu HMV y el ensayo de flexión se ha realizado en una máquina universal de ensayos Shimadzu Autograph 100kN. La determinación del módulo elástico se ha realizado por el procedimiento de ultrasonidos con un Digital Echograph de Karl Deutsch.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La sinterización de los diferentes polvos diferencia claramente el comportamiento de ambos grupos. Ya se distingue el comportamiento de los mismos tras la compactación al obtener densidades relativas en verde cercanas al 83% para la mezcla de polvos elementales y algo inferiores al 80% para los polvos aleados, que además disminuyen su densidad en función del contenido en Co, tabla2.

Esta diferencia se acentúa todavía más tras la sinterización donde la densidad relativa de la mezcla de polvos elementales alcanza el 97%, mientras que los polvos aleados mecánicamente quedan cerca del 91%, a pesar de la mayor presión de compactación utilizada. Ambos casos presentan contracciones muy importantes, cercanas al 15%

que deben considerarse a la hora de obtener las piezas finales.

Tabla 2. Propiedades geométricas de las aleaciones estudiadas

Aleación	Co (% peso)	Densidad relativa verde	Densidad relativa sinterizado
Ti3Co Mezcla Elemental	3.16	83.3	97.5
Ti6Co Mezcla Elemental	6.32	83.1	97.8
Ti9Co Mezcla Elemental	9.19	83.3	97.4
Ti3Co Aleado Mecánico	3.08	80.2	90.8
Ti6Co Aleado Mecánico	6.42	79.6	91.1
Ti9Co Aleado Mecánico	9.25	77.2	91.8

La composición química obtenida en cada se encuentra cercana a la composición nominal y no presenta diferencias apreciables según la naturaleza de los polvos. De manera semejante, no se aprecian grandes cambios en las fases obtenidas, tal como puede apreciarse en los análisis de difracción de rayos X, figura 1.

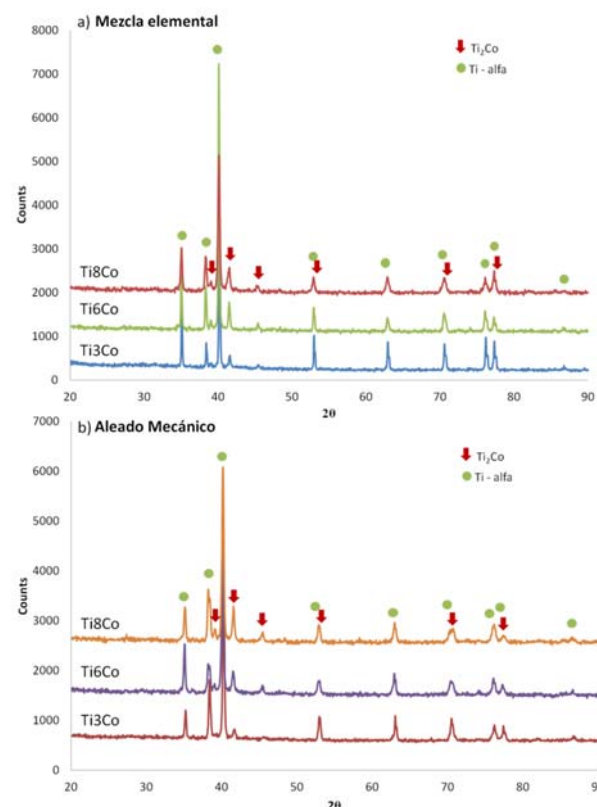


Figura 1. Determinación de las fases por difracción de rayos X de los sinterizados obtenidos con polvos elementales y aleados mecánicamente.

En ambos casos se aprecia la formación predominante de fase α , junto al intermetálico Ti_2Co , aunque algunos autores reportan el intermetálico $TiCo_2$ y otros [13]. Sin embargo, la microestructura resulta muy diferenciada; mientras con los polvos elementales aparecen microestructuras laminares, figura 2a, con los polvos aleados mecánicamente se observan microestructuras tipo dúplex, donde la distribución de la fase α y Ti_2Co se alternan, figura 2b. Ello, además de la porosidad, puede condicionar las propiedades mecánicas finales.

Esta diferencia microestructural se hace más patente

cuando comparamos las imágenes de electrones retrodispersados de los sinterizados, figura 3, en la que puede apreciarse la diferencia en la morfología de las fases y la cantidad y tamaño de las mismas. Pang et al. trabaja con aleaciones hipereutectoides, con un mayor contenido en cobalto, obteniendo una distribución de fases del tipo

Ti₂Co en borde de grano y eutectoide Ti₂Co+α-Ti+β-Ti en su interior [10]. en nuestro caso se aprecia la formación de granos α-Ti por transformación de la fase β, con una formación del eutectoide Ti₂Co+α-Ti como fase clara en la figura 3.

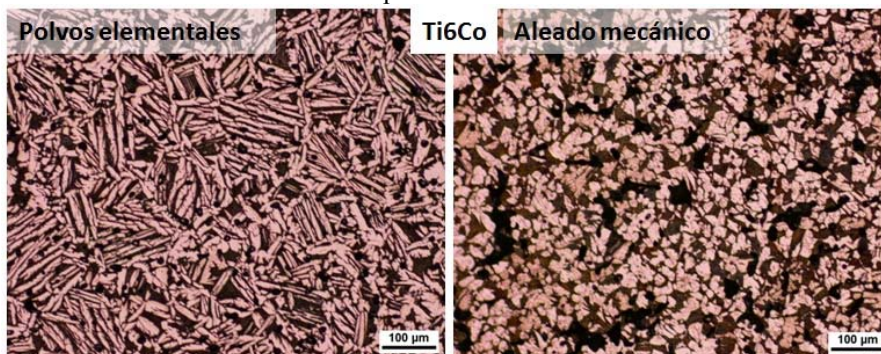


Figura 2: Micrografías de microscopía óptica de la aleación Ti5Co. A la izquierda obtenida con mezcla de polvos elementales, y a la derecha la obtenida con polvos aleados mecánicamente.

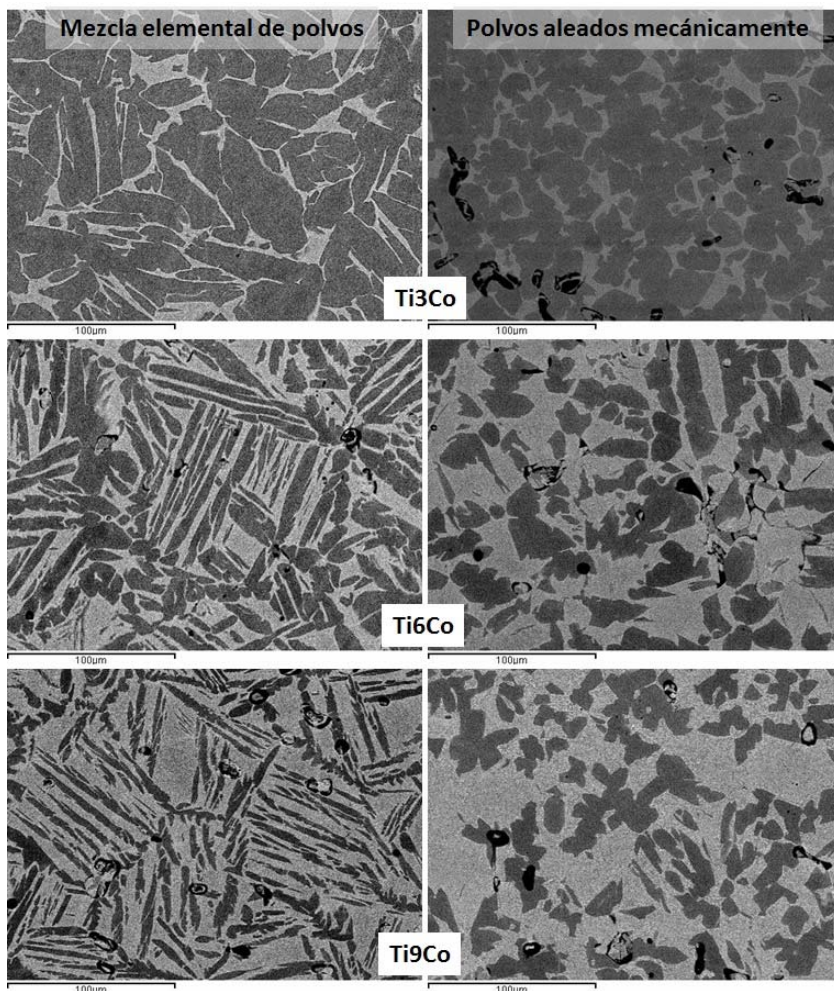


Figura 3: Detalle de la microestructura en las aleaciones obtenidas, mediante imágenes de electrones retrodispersados. A la izquierda las obtenidas con mezcla de polvos elementales, y a la derecha las obtenidas con polvos aleados mecánicamente.

No obstante, y tal como se recoge en la secuencia fotográfica y la tabla 3, el tamaño de los granos no difiere apenas entre los dos procesos aunque si su forma y distribución. La cantidad de fase α es semejante en ambos casos, disminuyendo sensiblemente en función del

contenido en Co, y se aparta significativamente de la distribución de equilibrio recogida en la tabla 3.

Sin embargo, el efecto más significativo lo encontramos en las propiedades mecánicas. Mientras Wang et al. encuentran microdurezas entre 341 y 488 HV en aleaciones

Ti₁₂Co [11] obtenidas por colada, las aleaciones obtenidas mediante polvos elementales presentan durezas de 250HV para Ti₃Co y de 301HV para Ti₉Co. Sin embargo, las aleadas mecánicamente presentan durezas independiente mente del contenido en Co, alrededor de los 310 HV, cuya merma puede explicarse por la porosidad de los productos sinterizados, aunque en el caso de los aleados mecánicamente debe considerarse igualmente el endurecimiento por deformación plástica de los polvos.

Tabla 3. Tamaño de grano equivalente y porcentaje de fases en las aleaciones Ti-Co.

Aleación	Tamaño grano (µm)	% fase α	% teórico fase α
Ti ₃ Co Mezcla Elemental	31.85	84.0	64.9
Ti ₆ Co Mezcla Elemental	22.90	62.7	29.8
Ti ₉ Co Mezcla Elemental	25.48	41.5	2.1
Ti ₃ Co Aleado Mecánico	23.92	85.0	65.8
Ti ₆ Co Aleado Mecánico	25.69	50.4	28.7
Ti ₉ Co Aleado Mecánico	23.88	42.5	2.8

Cuando se realizan ensayos de flexión, la cosa cambia por la mayor fragilidad que presentan las aleaciones aleadas mecánicamente, tabla 4. por ese motivo, la resistencia máxima a flexión decrece muy ligeramente en los polvos elementales, que presentan valores cercanos a los 1400 MPa, mientras que los polvos aleados disminuyen de manera drástica presentando valores alrededor de los 600 MPa. En todo caso superiores a los valores del Ti CP, lo que los hace atractivos para su utilización como biomateriales, principalmente al Ti₃Co que además presenta la mayor ductilidad.

Tabla 4. Propiedades mecánicas y porcentaje de fases en las aleaciones estudiadas

Aleación	Microdureza HV	Resistencia a flexión MPa	Módulo elástico GPa
Ti ₃ Co Mezcla Elemental	250	1493	87.8
Ti ₆ Co Mezcla Elemental	287	1411	87.6
Ti ₉ Co Mezcla Elemental	301	1371	88.6
Ti ₃ Co Aleado Mecánico	310	500	80.0
Ti ₆ Co Aleado Mecánico	312	651	87.7
Ti ₉ Co Aleado Mecánico	320	590	71.1

Cuando obtenemos el módulo elástico, objetivo fundamental para su aplicación en el campo biomédico, las aleaciones en general presentan valores semejante alrededor de los 87-88 GPa, aunque en alguno de los casos los polvos aleados mecánicamente presentan valores inferiores por la mayor porosidad de los sinterizados, alcanzando valores de 71 GPa para la aleación Ti₉Co.

No obstante, todavía se requieren esfuerzos y ensayos específicos de biocompatibilidad para afirmar su aplicación como biomaterial implantable.

4. Conclusiones

La adición de cobalto al titanio en composiciones hipoeutectoides, produce aleaciones que cambian en su microestructura las fases α y Ti₂Co. Según el contenido en Co aumenta, la microestructura se aleja en mayor medida de la esperada en condiciones de equilibrio.

El procesado por pulvimetalurgia permite obtener de manera sencilla y económica estas aleaciones tanto por

mezcla de polvos elementales como por compactación y sinterización de polvos aleados mecánicamente.

Aunque el tamaño equivalente de los granos, y las cantidades de fase resultan equivalentes la microestructura resulta muy diferenciada con formación de láminas en los polvos elementales y microestructura dúplex en los polvos aleados. Estos últimos presentan una mayor porosidad, que junto a su mayor endurecimiento y por tanto fragilidad explican, por una parte la ligera mayor dureza y sobre todo la menor resistencia máxima a flexión.

Agradecimientos

Al Ministerio de Economía y Competitividad del Gobierno de España la financiación recibida a través del proyecto de investigación MAT2014-53764-C3-1-R. A la Generalitat Valenciana por su financiación a través de PROMETEO 2016/040. A la UE por la financiación recibida a través del FEDER en el proyecto UPOV08-3E-005 para la compra de equipamiento y al servicio de Microscopía Electrónica de la Universitat Politècnica de València.

Referencias

- [1] Lautenschlager EP, Monaghan P. Titanium and titanium alloys as dental materials. *Int Dent J*, vol 43, 1993, pp 245-53.
- [2] Long M, Rack HJ. Titanium alloys in total joint replacement: a materials science perspective. *Biomaterials*, vol 19, 1998, pp 1621-39.
- [3] Biesiekierski A, Wang J, Gepreel MAH, Wen C. A new look at biomedical Ti-based shape memory alloys. *Acta Biomaterialia*. vol 8, 2012, pp 1661-69.
- [4] Niinomi M, (1998). Mechanical properties of biomedical titanium alloys. *Materials Science and Engineering*, vol 243, 1998, pp 231-236.
- [5] Geetha M, Singh A.K, Asokamani R, Gogia A.K. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants. *A review. Progress in Materials Science*, vol 54, 2009, pp 397-425.
- [6] Gepreel MA, Niinomi M. J, MechBehaviour. *Biomed Mat*, vol 20, 2013, pp 407-415.
- [7] Cheng CH, Hsu HC, Wu SC, Wang HW, Ho WF. Effects of chromium addition on structure and mechanical properties of Ti-10Zr alloy. *J. Alloys Compd*, vol 484, 2009, pp 524-28.
- [8] Pan W, Yan F, Fengchao L, Lihong W, Shaokang G. Microstructure and mechanical properties of Ti-Zr-Cr biomedical alloys. *Materials Science and Engineering C*, vol 51, 2015, pp 148-52.
- [9] Hsueh-Chuan H, Shih-Ching W, Shih-Kuang H, Chien-Ting L, Wen-Fu H. Effects of chromium addition on structure and mechanical properties of Ti-5Mo alloy. *Materials and Design*, vol 65, 2015, pp 700-06.
- [10] Pang X, Hu J, Zhan Y. Microstructural characteristics of Ti-Co alloys for biomedical applications. *Advanced Materials Research*, vol 791-793, 2013, pp 469-473.
- [11] Wang R, Welsch G. Evaluation of an experimental Ti-Co alloy for dental restorations. *Journal of Biomedical Research Part B: Applied Biomaterials*, vol. 101, 2013, pp 1419-27.
- [12] Yongzhong Z, Zan S, Dan P, Jichao J, Jia S. The 773K isothermal section of the Ti-Co-V ternary system. *Journal of Alloys and Compounds*, vol 481, 2009, pp 233-35.
- [13] Jichao J, Yongzhong Z, Zan S, Dan P, Guanghua Z. The isothermal section of the Ti-Co-Zr ternary system at 773K. *Journal of Alloys and Compounds*, vol 482, 2009, pp 127-30.
- [14] Zhifang G, Honglin L, Qunying L, Yizao W. Preparation and Characterization of Ti-10Mo Alloy by Mechanical Alloying. *Metallogr. Microstruct. Anal*, vol 1, 2012, pp 282-89.
- [15] Xin L, Bo S, Teng-fei Z, Lu-ning W, Cheng-cheng L, Xuan-hui Q. Microstructure and mechanical properties of spark plasma sintered Ti-Mo alloys for dental applications. *International Journal of Minerals, Metallurgy and Materials*, vol 21, sub 5, 2014, pp 479.

Evaluación térmica de un sistema radiante de microondas para el tratamiento del cáncer de mama mediante hipertermia

A. Garcia-Miquel¹, S. Curto^{2,3}, N. Vidal Martínez¹, J.M. López-Villegas¹, P. Prakash³

¹ Departamento de Electrónica, Universidad de Barcelona, Barcelona, España, aleix.garcia@ub.edu

² Dept. Radiation Oncology, Cancer Institute, Erasmus University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands

³ Dept. of Electrical and Computer Eng., Kansas State University, Manhattan, KS 66506, USA

Resumen

El objetivo de este trabajo es evaluar la respuesta térmica del tejido mamario a un aplicador de microondas utilizado para el tratamiento del cáncer de mama mediante hipertermia. El dispositivo presentado consta de un array de 4 antenas con un plano de masa semiesférico para poder integrarse en una plataforma similar a un sujetador, con el objetivo de aumentar la comodidad del paciente, y por consiguiente una mayor aceptación del tratamiento. Se han considerado dos escenarios distintos: para focalizar la radiación en la zona central se han alimentado todas las antenas con la misma amplitud y fase, mientras que para concentrar la radiación en una región lateral se han optimizado las fases de las alimentaciones. La tasa de absorción específica (SAR) y el incremento de temperatura se han analizado en ambos casos, obteniendo unos tiempos de entre 3 y 5 minutos de exposición para llegar a las temperaturas adecuadas con una potencia de 7.5 W a cada antena.

1. Introducción

El cáncer de mama es el tipo de tumor más frecuente diagnosticado entre mujeres [1]. En España, en datos del 2012, el cáncer de mama representó el 29% de los nuevos tumores diagnosticados, con una mortalidad del 15.5% y una prevalencia a los 5 años del 40.8% [2]. El tratamiento convencional para el cáncer de mama consiste en la extirpación del tumor junto a todo el tejido mamario (mastectomía) o parte de él (lumpectomía), dependiendo del tamaño del tumor [3]. Paralelamente, diversas sesiones de radioterapia o quimioterapia son también programadas como parte del tratamiento. Varios estudios clínicos han demostrado que la efectividad de estas terapias puede complementarse mediante sesiones de hipertermia [4, 5]. Este tipo de tratamiento puede reducir las dosis subministradas, mejorando la calidad de vida de la paciente.

El tratamiento de hipertermia por microondas consiste en el uso de microondas para aumentar la temperatura del tejido tumoral a temperaturas entre 41 y 45°C sin rebasar la tolerancia térmica de los tejidos sanos adyacentes. A estas temperaturas las células tumorales no son capaces de disipar el calor por medio de vasodilatación debido a su estructura vascular aberrante.

Actualmente, existen pocos hospitales que dispongan de este tipo de tecnología térmica. La tendencia de la reciente investigación consiste en miniaturizar estos dispositivos, aumentar su ergonomía, así como mejorar sus prestaciones [6–8]. En nuestros trabajos previos

presentamos un prototipo de generador de hipertermia mediante microondas para el tratamiento del cáncer de mama [9–11]. Este dispositivo consta de un array de antenas con un plano de masa semiesférico y una cavidad de agua fría renovable entre el dispositivo y el pecho, con el fin de mantener la temperatura de la piel sana y su tejido adyacente dentro de un rango tolerable, minimizar el tamaño de las antenas, y maximizar la transferencia de energía del dispositivo al tumor. En [9] se evaluaron las variaciones de la tasa de absorción específica (SAR) y eficiencia de potencia para diferente número de elementos radiantes en el array operando a 434 MHz y 915 MHz, mientras que en [10] se consideraron varias configuraciones de alimentación de las antenas con el fin de aumentar la eficiencia de potencia y se modeló el dispositivo en modelos mamarios anatómicos. A diferencia de esos trabajos previos, en esta nueva contribución se pretende profundizar en el análisis de la respuesta térmica de un modelo mamario en función del tipo de alimentación y del tiempo de exposición.

2. Metodología

Los modelos en 3D del dispositivo y del tejido mamario se realizaron con el software de simulación electromagnética *CST Microwave Studio* [12]. El aplicador de microondas consta de un array de 4 antenas, de tipo parche rectangular, diseñadas para operar a 915 MHz. El plano de masa de las antenas consiste en una semiesfera conductiva que permite el confinamiento del campo radiado en el objetivo. En la cavidad de 25 mm existente entre el aplicador y el modelo mamario se inyecta agua fría deionizada mediante unas válvulas de entrada y salida. Esto permite la refrigeración de la superficie de la piel, la parte más expuesta a la radiación. Con el objetivo de minimizar la carga computacional de las simulaciones se utilizó un modelo de mama canónico basado en una semiesfera bicapa con un diámetro de 90 mm, como puede verse en la Figura 1. En la parte más externa, una capa de piel de 2 mm de grosor recubre el tejido fibroglandular. El modelo incluye un torso rectangular bicapa de 15 mm de tejido adiposo adyacente a 5 mm de músculo. En la Tabla I se muestran los parámetros eléctricos (permitividad relativa ϵ_r y conductividad eléctrica σ) de los tejidos utilizados en las simulaciones [11]. La distribución espacial de la absorción de la radiación en el modelo mamario se evaluó mediante el cálculo de la tasa de absorción específica (SAR, por sus siglas en inglés) de los tejidos,

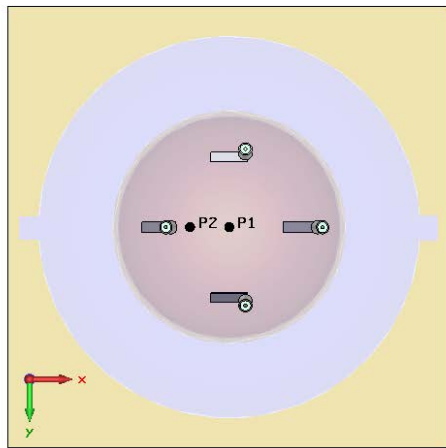
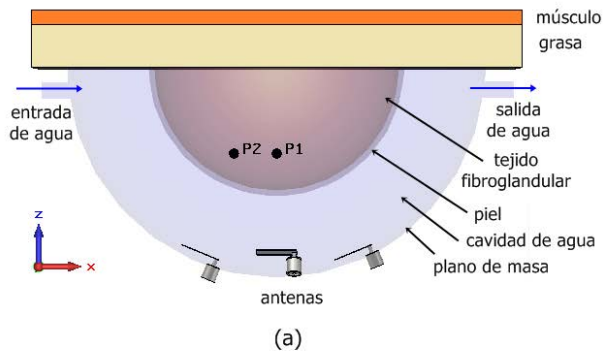


Figura 1. Perfil (a) y vista inferior (b) del dispositivo y el modelo. Los puntos P1 y P2 corresponden a las localizaciones de los casos estudiados: tumor central y lateral, respectivamente.

$$SAR = \frac{\sigma |\vec{E}|^2}{2\rho} \quad (1)$$

donde E (V/m) es el vector del campo eléctrico y ρ (Kg/m³) es la densidad del material. A partir de los resultados del SAR, se calculó el incremento de temperatura en los diferentes tejidos en función de la posición y el tiempo de exposición. El mismo software CST incorpora las herramientas adecuadas para determinar las interacciones térmicas entre los distintos elementos, basados en la fórmula de Pennes [13],

$$\rho C \frac{\partial T}{\partial t} = \nabla \cdot k \nabla T + Q - B(T - T_{sa}) + A_0 \quad (2)$$

donde C es la capacidad calorífica específica, T es la temperatura variable en el tiempo t , k es la conductividad térmica, Q es la fuente de calor o la deposición volumétrica de potencia, B es el coeficiente de perfusión de la sangre, T_{sa} es la temperatura de la sangre y A_0 es el calor generado por el metabolismo. En la Tabla I se muestran los parámetros térmicos de los tejidos y sus unidades.

Para las simulaciones, se consideró que el agua del circuito de refrigeración circulaba a una temperatura constante de 10° C y el tejido mamario estaba a una temperatura inicial de 37° C. Con los cálculos del SAR se estimaron los tiempos necesarios para conseguir una temperatura en el rango de 41 a 45° C en el tejido tumoral para dos casos: un tumor situado en el centro del modelo, a 30 mm del torso (P1 en Figura 1), y otro tumor situado a la misma altura pero 15 mm hacia el lado izquierdo (P2 en Figura 1). Se calcularon los incrementos de temperatura en intervalos de 50 segundos. Para concentrar la radiación en el tumor central las fases de las alimentaciones de las antenas fueron las mismas, mientras que para focalizar la energía en el tumor lateral se utilizó un algoritmo para optimizar las fases basado en la superposición de los campos eléctricos, tal y como se describe en [14]. Las amplitudes de la potencia entregada en ambos casos se fijó en 7.5 W para cada elemento.

3. Resultados y discusión

En la Figura 2 se puede apreciar la distribución del SAR en el plano xz para los dos casos de estudio. En el primer caso se puede apreciar cómo, efectivamente, la focalización de la radiación se concentra en la parte central. Al no tener diferencias en las fases de las alimentaciones de las antenas los campos eléctricos presentan simetría. Se observan reflexiones en las interfaces de los tejidos, como entre la cavidad de agua y la piel o con el tejido fibroglandular y las paredes del torso. En el segundo caso, la absorción de la radiación se focaliza en la región lateral. Las fases de las alimentaciones de las antenas se calcularon mediante el algoritmo de superposición de campos eléctricos, perdiendo así la simetría del caso anterior. También se observan las reflexiones de los campos en las zonas de cambio de tejido. En ambos casos los valores de SAR llegaron a rebasar ligeramente los 10 W/Kg.

Propiedad	Agua	Piel	Tejido fibro.	Grasa	Músculo
ϵ_r	79.95	46.02	41.14	5.45	54.99
σ (S/m)	0.2	0.85	0.83	0.051	0.948
ρ (Kg/m ³)	1000	1085	1050	1069	1041
C (J/Kg°C)	4186	3765	3600	2279	3546
k (W/m°C)	0.6	0.397	0.5	0.306	0.5
B (W/m ³ °C)	NA	5929	2700	2229	2700
A_0 (W/m ³)	NA	1620	690	350	690

Tabla 1. Parámetros eléctricos y térmicos de los tejidos utilizados [11]

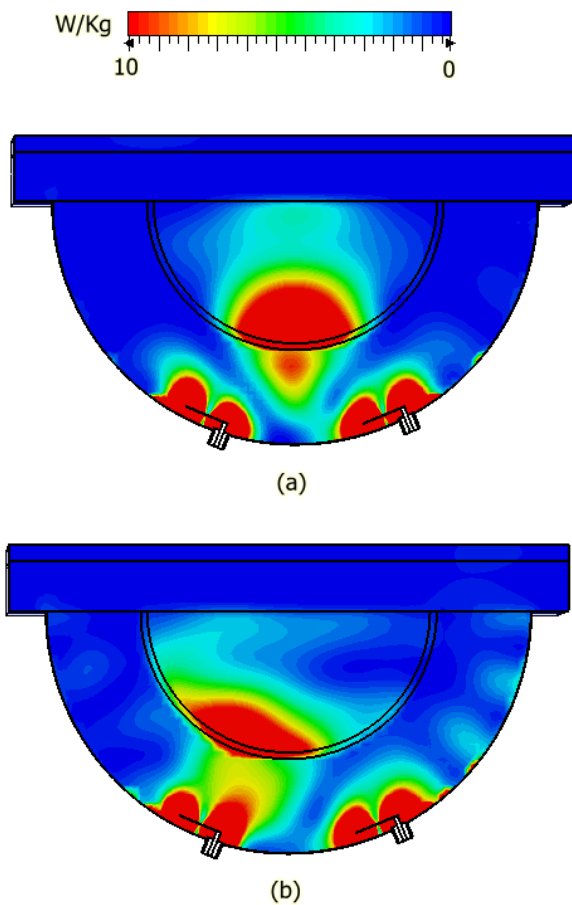


Figura 2. Diagramas de SAR para la focalización de la radiación en la posición P1 (a) y en la posición P2 (b)

En la Figura 3 se observa la temperatura de los modelos en el momento en que la región de interés superó los 41°C (marcada con una línea discontinua). En el primer caso se necesitaron 200 segundos para conseguir los valores deseados mientras que para llegar al objetivo en el tumor lateral el tratamiento se tuvo que aplicar 100 segundos más. Por otro lado, se puede observar también que gracias al circuito de refrigeración de agua los valores de temperatura en la piel se mantienen mayoritariamente por debajo de los valores de hipertermia. Es importante destacar que una vez el tumor ha llegado al rango térmico deseado debe controlarse la potencia entregada a las antenas para mantener el incremento de temperatura en el rango deseado.

4. Conclusiones

En esta contribución se ha presentado la evaluación térmica de un dispositivo de hipertermia basado en radiación de microondas para el tratamiento del cáncer de mama. Se han analizado las distribuciones del SAR y de temperatura en un modelo canónico de mama para un tumor situado en la zona central y otro localizado en una zona lateral. Los resultados del SAR muestran la viabilidad del dispositivo para tratar tumores en distintas localizaciones mediante el cambio de fase de las alimentaciones.

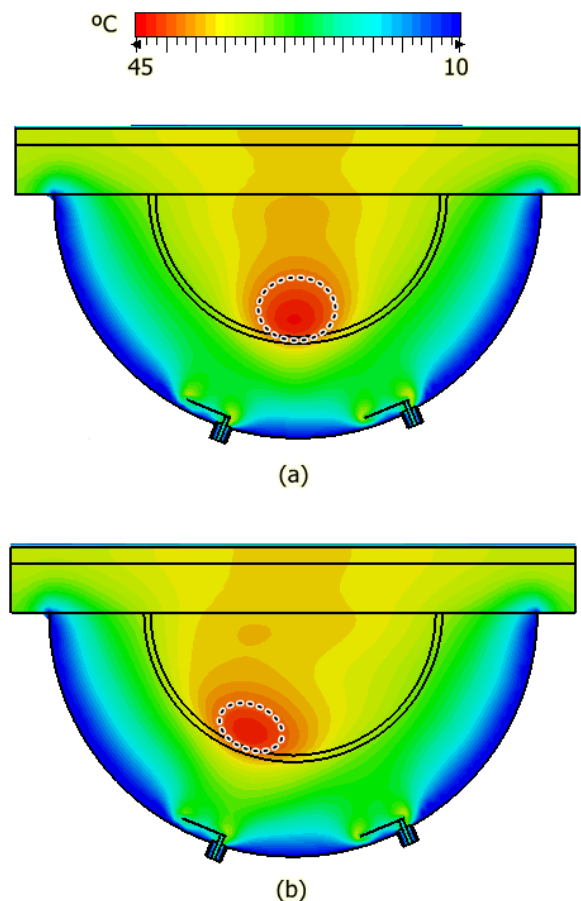


Figura 3. Diagramas de temperatura para la focalización de la radiación en la posición P1 (a) y en la posición P2 (b). La línea discontinua marca los valores superiores a 41°C

Los resultados de la evaluación térmica muestran la posibilidad de alcanzar aumentos de temperatura adecuados en exposiciones de entre 3 y 5 minutos con una potencia entregada a cada antena de 7.5 W. La temperatura de la piel se mantiene en un rango seguro debido al circuito de refrigeración de agua.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en el marco del proyecto TEC2013-40430-R del Ministerio de Economía y Competitividad español.

Referencias

- [1] L. A. Torre, F. Bray, R. L. Siegel, J. Ferlay, J. Lortet-Tieulent, and A. Jemal, "Global cancer statistics, 2012," *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 65, no. 2, pp. 87–108, Mar. 2015.
- [2] J. Ferlay, E. Steliarova-Foucher, J. Lortet-Tieulent, S. Rosso, J. W. W. Coebergh, H. Comber, D. Forman, and F. Bray, "Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012," *Eur. J. Cancer Oxf. Engl. 1990*, vol. 49, no. 6, pp. 1374–1403, Apr. 2013.
- [3] A. American Cancer Society, "Detailed Guide: Breast Cancer," 2014.

- [4] T. M. Zagar, J. R. Oleson, Z. Vujaskovic, M. W. Dewhurst, O. I. Craciunescu, K. L. Blackwell, L. R. Prosnitz, and E. L. Jones, "Hyperthermia combined with radiation therapy for superficial breast cancer and chest wall recurrence: A review of the randomised data," *Int. J. Hyperth. Off. J. Eur. Soc. Hyperthermic Oncol. North Am. Hyperth. Group*, vol. 26, no. 7, pp. 612–617, 2010.
- [5] J. Van Der Zee, M. De Bruijne, J. W. M. Mens, A. Ameziane, M. P. Broekmeyer-Reurink, T. Drizdal, M. Linthorst, and G. C. Van Rhooon, "Reirradiation combined with hyperthermia in breast cancer recurrences: overview of experience in Erasmus MC," *Int. J. Hyperth. Off. J. Eur. Soc. Hyperthermic Oncol. North Am. Hyperth. Group*, vol. 26, no. 7, pp. 638–648, 2010.
- [6] D. A. Iero, L. Crocco, T. Isernia, and E. Korkmaz, "Optimal focused electromagnetic hyperthermia treatment of breast cancer," in *2016 10th European Conference on Antennas and Propagation (EuCAP)*, 2016, pp. 1–2.
- [7] M. Asili, P. Chen, A. Z. Hood, A. Purser, R. Hulsey, L. Johnson, A. Venkataraman Ganesan, U. Demirci, and E. Topsakal, "Flexible Microwave Antenna Applicator for Chemo-Thermotherapy of the Breast," *IEEE Antennas Wirel. Propag. Lett.*, vol. 14, pp. 1778–1781, 2015.
- [8] P. T. Nguyen, A. Abbosh, and S. Crozier, "Microwave Hyperthermia for Breast Cancer Treatment Using Electromagnetic and Thermal Focusing Tested on Realistic Breast Models and Antenna Arrays," *IEEE Trans. Antennas Propag.*, vol. 63, no. 10, pp. 4426–4434, Oct. 2015.
- [9] A. Garcia-Miquel, S. Curto, N. Vidal, J. M. Lopez-Villegas, and P. Prakash, "Compact Microwave Applicator for Thermal Therapy of Breast Cancer: Comparative Assessment of Arrays Operating at 434 and 915 MHz," in *European Conference on Antennas and Propagation*, Davos, Switzerland, 2016.
- [10] A. Garcia-Miquel, S. Curto, N. Vidal, J. M. Lopez-Villegas, and P. Prakash, "Antenna Array for Hyperthermia Treatment of Breast Cancer," in *XXXI Simposium Nacional de la Unión Científica Internacional de Radio*, Madrid, Spain, 2016.
- [11] S. Curto and P. Prakash, "Design of a compact antenna with flared groundplane for a wearable breast hyperthermia system," *Int. J. Hyperth. Off. J. Eur. Soc. Hyperthermic Oncol. North Am. Hyperth. Group*, pp. 1–11, Sep. 2015.
- [12] Página web de CST Microwave Studio. Disponible en: <https://www.cst.com/>. [Consultada: 30-Aug-2016].
- [13] H. H. Pennes, "Analysis of Tissue and Arterial Blood Temperatures in the Resting Human Forearm," *J. Appl. Physiol.*, vol. 1, no. 2, pp. 93–122, Aug. 1948.
- [14] L. Wu, R. J. McGough, O. A. Arabe, and T. V. Samulski, "An RF phased array applicator designed for hyperthermia breast cancer treatments," *Phys. Med. Biol.*, vol. 51, no. 1, p. 1, 2006.

Desarrollo e implantación del subproceso de Primera Visita en una Unidad de Litotricia y Endourología de un hospital terciario

D. López Acón¹, A. Cava Rech¹, A. Budía Alba¹, J. Bru Sanchis², D. Vivas-Consuelo², M. Trassierra Villa¹, P. Bahilo Mateu¹, G. Ordaz Jurado¹.

Unidad de Litotricia y Endourología, Servicio de Urología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, España.

² CIEGS. Universitat Politècnica de València, España

Resumen

La gestión por procesos es un tipo de estrategia que permite dar soporte a las actividades y procesos de cualquier tipo de organización, en orden de aumentar la productividad y rendimiento, disminuir la variabilidad de los procesos manejados y así conseguir una reducción de los costes. Por ello, el presente documento persigue su implantación dentro de la Unidad de Litotricia y Endourología del Hospital la Fe, más concretamente del proceso de Primera Visita. Esto ha sido posible gracias al desarrollo de un conjunto de herramientas típicas de este modelo de gestión, como son el mapa de procesos, la cadena de valor, el diagrama de flujos o el de prioridades. Para el control de los procesos, se definieron un conjunto de indicadores, que posteriormente fueron obtenidos y evaluados gracias a la inicial monitorización en tiempo real del proceso, y a su posterior análisis mediante un software estadístico. Así, la implantación del subproceso de primera visita, ha permitido principalmente disminuir la variabilidad en la práctica clínica y mejorar la percepción de calidad del paciente.

1. Introducción

La gestión por procesos es un sistema de trabajo enfocado a perseguir la mejora continua del funcionamiento de las actividades de una organización. Dentro de la gestión clínica la englobaríamos con objetivos de alcanzar modelos de gestión eficientes tanto en calidad, como en consumo de recursos sanitarios. [1]

Se trata de un modelo ya adoptado por muchas empresas industriales independientes, siendo el sistema de producción Toyota, un ejemplo clásico de mejora de la productividad (más conocido como “Lean manufacturing”). En el ámbito sanitario público, sin embargo, es un modelo apenas experimentado, a pesar de que su aplicación contribuiría a una disminución de la variabilidad en la práctica clínica, a una optimización de recursos y a un aumento de la productividad principalmente. A nivel nacional únicamente la Junta de Andalucía ha propuesto un modelo teórico muy generalista de la gestión por procesos en algunas áreas, aún sin arraigo en la práctica clínica. [2]

La principal característica del presente trabajo es el ámbito de aplicación de la gestión por procesos en el marco de la mejora continua, puesto que no existen precedentes en el ámbito sanitario en cuanto al diseño y aplicación real de un modelo de gestión como este, a un

nivel tan práctico como es el funcionamiento pleno de una unidad específica de un hospital terciario. Por tanto, los productos y servicios similares ya existentes vemos que se sitúan principalmente a nivel industrial, mientras que a nivel sanitario, se aplican únicamente en grandes procesos globales. [2]

2. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo ha sido el desarrollo, la implantación y el control del proceso de primera visita en una unidad de litotricia, como herramienta de mejora continua y evaluar su repercusión en la calidad percibida por el paciente.

Los objetivos secundarios han sido disminuir la variabilidad en la decisión terapéutica de la primera visita, por parte de todos los profesionales de la Unidad, simplificando el proceso e introduciendo otras medidas de mejora continua como la realización de una cadena de valor y un diagrama de oportunidades. [3]

3. Material y métodos

La metodología incluye inicialmente una serie de fases de desarrollo teórico de los procesos y del marco en el que se desarrollan, posteriormente una fase donde se ponen en marcha de manera práctica sobre el funcionamiento de la Unidad, y por último la fase de análisis de los resultados de la implementación del modelo de la gestión por proceso. [3]

Dentro de la fase de Diseño Pre-Operativo:

- Identificación de los clientes y de sus necesidades.
- Definición de los servicios y productos.
- Desarrollo del mapa de procesos de la Unidad dentro de la organización del Hospital. Se ven reflejados (ver Figura 1) los procesos mas importantes tanto estratégicos como de soporte, así como los procesos operacionales de la propia Unidad.
- Descripción del proceso. Incluye: definición del proceso, clientes, expectativas y requisitos, grupos de interés y alianzas, arquitectura el proceso, relaciones con otros procesos, subprocesos emergentes y revisiones.

- Construcción del diagramas de flujo del proceso a través del software de dibujo vectorial Microsoft Visio R (ver Figura 2).

Dentro de la fase de Trabajo de Campo:

- Recogida y análisis de los datos. Mediante la definición de diversos indicadores propios de funcionamiento (procesos, resultados y seguridad) se permitirá el control de cualquier desviación y la posibilidad de implantar medidas correctoras.
- Aplicación de la metodología Lean (mapa de cadena de valor y diagrama de prioridades) para la mejora continua. Trimestralmente en la Unidad se realizan sesiones internas de trabajo en las que se detectan los eventos o circunstancias que influyen negativamente en la consecución de los indicadores, y que posteriormente serán dispuestos en una la cadena de valor, que recoge todos los posibles pasos que puede seguir el paciente desde el inicio hasta el fin del procesos.

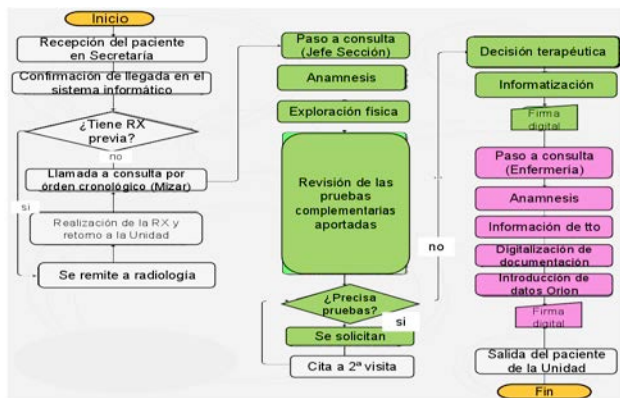


Figura 2. Diagrama de flujo 1º visita

Inicialmente en el proceso, se considera la posible prueba de imagen a realizar para el correcto abordaje de la enfermedad litiasica. Una vez en la unidad, el paciente pasará a consulta médica en orden cronológico de llegada. El quiosco de la unidad posibilita el registro de llegadas en el programa Mizar. Tras hacer una revisión completa del estado de la litiasis y del paciente, se llegará a una modalidad de tratamiento, la cual tendrá que ser explicada y abordada posteriormente por enfermería. Finalmente el paciente abandonará la unidad.

La cadena de valor sirve como base identificativa de los problemas o circunstancias negativas, que inhabilitan la validación de los indicadores, como se observa en la figura 3.

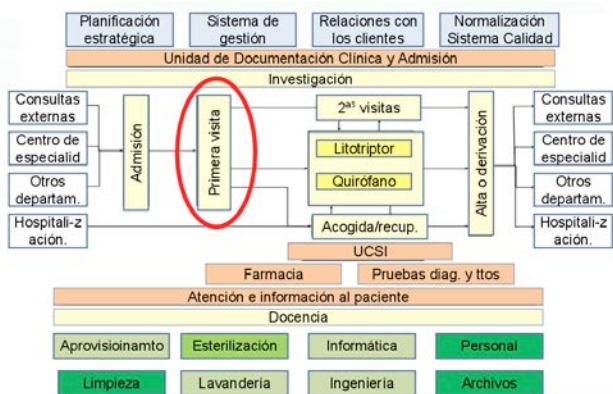


Figura 1. Mapa de procesos

Los procesos operativos más relevantes de la Unidad se encuentran en color amarillo, en tanto que los estratégicos del hospital, se hallan en azul y los de soporte en color verde. Nuestro objeto de estudio lo conforma el proceso remarcado en rojo de la figura.

El diagrama de flujos diseñado para el proceso de primera visita, integra todas las actividades administrativas, asistenciales facultativas y de atención de enfermería que implican al paciente desde que llega hasta que abandona la Unidad.



Figura 3. Cadena de valor

Cada uno de los problemas identificados son trasladados posteriormente a un diagrama de prioridades, siendo clasificados en función de su importancia (repercusión) y su coste (dificultad de resolución) como se visualiza en la figura 4. Esto facilitará las tareas de priorización para el abordaje de los mismos a la hora de dirigir esfuerzos y recursos.



Figura 4. Diagrama de prioridades

Para el control del proceso, se evaluaron los indicadores diseñados del mismo, evaluados en los dos últimos años:

- Número de pacientes vistos. (Estándar ≥ 600 pac/año)
- Tiempo de permanencia en la Unidad. (Estándar ≤ 60 minutos)
- Tratamiento de cálculos renales mayores de 2cm. (Estándar $\geq 75\%$)
- Tratamiento médico alcalinizante. (Estándar $\geq 90\%$)
- Tratamiento con alfa-bloqueantes. (Estándar $\geq 90\%$)
- Tratamiento acidificante. (Estándar $\geq 75\%$)

La recogida de los datos, en este caso de los tiempos correspondientes a los puntos de control del proceso, se realizó de manera prospectiva en el tiempo, alcanzándose un total de 432 pacientes (Enero-Mayo 2016) vistos durante primeras consultas y registrados en una base de datos en formato Hoja Excel (Microsoft Excel Versión 15.11.2). Los primeros 200 pacientes fueron registrados a tiempo real durante su primera visita y los restantes, de forma automática a través del sistema informático disponible en el hospital, en este caso los programas Mizar (Versión 2.0) y Orion Clinic. Del mismo modo fueron obtenidos los valores correspondientes al año 2014, para poder realizar así la comparativa de resultados.

Los puntos de control establecidos (ver Figura 5) han sido:

- Hora programada de citación a consulta.
- Hora de llegada del paciente a la unidad.
- Hora de entrada y de salida de consulta médica.
- Hora de entrada y de salida de consulta de enfermería.

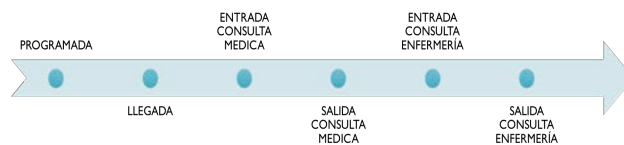


Figura 5. Puntos de control 1º visita

El análisis del total de los tiempos registrados ha sido posible mediante el software estadístico Sps (Versión 15.0). Las variables cuantitativas fueron resumidas mediante la media y el IC9, mientras que las variables cualitativas lo fueron mediante el n(%).

Para la evaluación de la satisfacción del paciente, se les entregan encuestas de calidad percibida al finalizar la primera consulta a la Unidad. Posteriormente serán digitalizadas y analizadas telemáticamente.

4. Resultados

Los valores obtenidos para los indicadores del proceso de primera visita son:

Indicadores	Valor basal	Valor actual	Cumplimiento
Núm. Pacientes (n)	995	432	Si
Tiempo global permanencia (min.)	64,72	72,50	No
Tto litiasis > 2cm (%)	96	100	Si
Tto alcalinizante (%)	92	98	Si
Tto alfa-bloqueantes (%)	∅	∅	∅
Tto acidificante (%)	94	100	Si

Tabla 1. Revisión de indicadores proceso

Observamos que, a excepción del tratamiento con α -bloqueantes, donde se requiere de una inmediata mejora en la recogida de datos, se cumplen el resto de indicadores referidos a la decisión terapéutica.

Para conocer las causas que motivan el incumplimiento del tiempo global promedio de permanencia en la Unidad durante primeras consultas, nos fijamos en los resultados obtenidos de la monitorización del flujo del paciente. Este debería ser inferior a 60 minutos para considerarse correcto, y evitar mermar la satisfacción del paciente.

Indicador	Tiempo obtenido (min)	Desviación
Espera a consulta médica	36,09	Si
Tempo total consulta med.	14,37	No
Espera a consulta enfermera	37,04	Si
Tempo total consulta enf.	14,55	No

Tabla 2. Revisión indicadores flujo paciente

Estos resultados reflejan desviaciones en los tiempos que se corresponden con las esperas para el paso a las consultas. El primero de los casos vendría causado principalmente por un incorrecto modo de proceder del paciente de nuevo diagnóstico, que realiza su registro de llegada a la Unidad, antes de realizarse la prueba de imagen médica requerida para el correcto diagnóstico final. En este aspecto únicamente cabría reiterar en el camino apropiado a seguir por el paciente.

Mientras que para la espera a consulta de enfermería, que viene causada por una carga adicional no programada, deberían concederse prioridades a aquellos pacientes provenientes de primeras consultas.

Por otro lado, las encuestas de evaluación de calidad percibida por el paciente muestran los siguientes resultados:

Aspectos encuesta	Valor basal (%satisfacción)	Valor posterior (%satisfacción)
Trato	99,68	99,85
Confort	82	100
Accesibilidad	66,67	90,05
Seguridad	96,91	99,51
Información	85,11	98,35
Satisfacción global	88,57	97,04

Tabla 3. Encuestas de calidad percibida por el paciente

La calidad percibida por el paciente se ha visto incrementada en aquellos aspectos en los que la valoración era inferior en una determinación basal previa a la implantación del proceso (Año 2014).

Mediante la herramienta de la cadena de valor fueron identificados un total de 21 problemas, de los cuales 9 eran de gran importancia. Con la clasificación de los mismos en el diagrama de oportunidades se han corregido el 61,9% de los mismos, quedando pendientes aquellos que dependen de departamentos fuera de la Unidad.

5. Conclusiones

La implantación inicial del proceso de primera visita ha permitido disminuir la variabilidad en la práctica clínica, implementar medidas de mejora continua y aumentar la percepción de la calidad de la asistencia proporcionada en la Unidad de Litotricia y Endourología.

Asimismo ha puesto de manifiesto un conjunto de deficiencias en los sistema informático, las cuales se podrían subsanar con el manejo de una herramienta BPM (Business Process Management) de modo que permita gestionar grandes volúmenes de información lo mas eficaz y eficientemente posible.

Referencias

- [1] Bru, Juan. *Gestión de Procesos y Operaciones*. Curso de Especialista Universitario en Gestión de Enfermedades. Sistemas de Información y Gestión de Procesos y Calidad en la Gestión de Enfermedades. Máster en Dirección y Organización de Hospitales. 185p.
- [2] Consejería de Salud. Junta de Andalucía. *Guía de diseño y mejora coninua de procesos asistenciales: calidad por sistema*. Sevilla 2001.
- [3] Bronzino Bernhard Hitpass BPM: Business Process Management Fundamentos y Conceptos de Implementación. 3ª Ed. BHH Ltda. Santiago de Chile. 2014
- [4] López Acon, D. (2015) Desarrollo e implantación del subproceso de Primera Visita en una Unidad de Litotricia y Endourología de un hospital terciario [Abstract]

Desarrollo e implantación del subproceso de Litotricia Extracorpórea en una Unidad de Litotricia y Endourología de un hospital terciario

D. López Acón¹, A. Cava Rech¹, A. Budía Alba¹, J. Bru Sanchis², D. Vivas-Consuelo², M. Trassierra Villa¹, P. Bahilo Mateu¹, G. Ordaz Jurado¹.

¹Unidad de Litotricia y Endourología, Servicio de Urología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, España.

² CIEGS. Universitat Politècnica de València, España

Resumen

La gestión por procesos es un tipo de estrategia que permite dar soporte a las actividades y procesos de cualquier tipo de organización, en orden de aumentar la productividad y rendimiento, disminuir la variabilidad de los procesos manejados y así conseguir una reducción de los costes. Por ello, el presente documento persigue su implantación dentro del servicio de Litotricia del Hospital la Fe, más concretamente, del proceso de Litotricia Extracorpórea. Esto ha sido posible gracias al desarrollo de un conjunto de herramientas típicas de este modelo de gestión, como son el mapa de procesos o el diagrama de flujos. Para el control de los procesos, se definieron un conjunto de indicadores, que posteriormente fueron obtenidos y evaluados gracias a la inicial monitorización en tiempo real del proceso, y a su posterior análisis mediante un software estadístico. Así, la implantación del subproceso de litotricia extracorpórea ha permitido identificar una variabilidad clínica entre el personal de la Unidad, aumentar el rendimiento del litotriptor y mejorar la percepción de calidad del paciente.

1. Introducción

La gestión por procesos es un sistema de trabajo enfocado a perseguir la mejora continua del funcionamiento de las actividades de una organización. Dentro de la gestión clínica la englobaríamos con objetivos de alcanzar modelos de gestión eficientes tanto en calidad, como en consumo de recursos sanitarios. [1]

Se trata de un modelo ya adoptado por muchas empresas industriales independientes, siendo el sistema de producción Toyota, un ejemplo clásico de mejora de la productividad (“Lean manufacturing”). En el ámbito sanitario público sin embargo, es un modelo apenas experimentado, a pesar de que su aplicación contribuiría a una disminución de la variabilidad en la práctica clínica, a una optimización de recursos y a un aumento de la productividad principalmente. A nivel nacional únicamente la Junta de Andalucía ha propuesto un modelo teórico muy generalista de la gestión por procesos en algunas áreas, aún sin arraigo en la práctica clínica. [2]

La principal característica del presente trabajo es el ámbito de aplicación de la gestión por procesos en el marco de la mejora continua, puesto que no existen precedentes en el ámbito sanitario en cuanto al diseño y aplicación real de un modelo de gestión como este, a un nivel tan práctico como es el funcionamiento pleno de una

unidad específica de un hospital terciario. Los productos y servicios similares ya existentes se sitúan principalmente a nivel industrial, mientras que a nivel sanitario se aplican únicamente en grandes procesos globales. gestión por procesos es un sistema de trabajo enfocado a perseguir la mejora continua del funcionamiento de las actividades de una organización. Su aplicación en el entorno sanitario contribuye a una disminución de la variabilidad en la práctica clínica, a una optimización de recursos y a un aumento de la productividad. [2]

2. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo ha sido el desarrollo, la implantación y el control del proceso de litotricia extracorpórea por ondas de choque en una unidad de litotricia como herramienta de mejora continua.

Los objetivos secundarios han sido evaluar la variabilidad en el desarrollo de este procedimiento y sus tiempos asociados, incrementar el índice de ocupación del litotriptor, mejorando la accesibilidad y la calidad asistencial del proceso y evaluación del tiempo completo de resolución con esta técnica. [3]

3. Material y métodos

La metodología incluye una serie de fases de desarrollo teórico de los procesos y el marco en el que se desarrollan, posteriormente una fase donde se ponen en marcha de manera práctica sobre el funcionamiento de la Unidad y por último, la fase de análisis de los resultados de la implementación del modelo de la gestión por proceso. [3]

Dentro de la fase de Diseño Pre-Operativo:

- Identificación de los clientes y de sus necesidades.
- Definición de los servicios y productos.
- Desarrollo del mapa de procesos de la Unidad dentro de la organización del Hospital. Se ven reflejados (ver Figura 1) los procesos mas importantes tanto estratégicos como de soporte, así como los procesos operacionales de la propia unidad
- Descripción del proceso. Incluye: definición del proceso, clientes, expectativas y requisitos,

grupos de interés y alianzas, arquitectura el proceso, relaciones con otros procesos, subprocesos emergentes y revisiones.

- Construcción del diagramas de flujo del proceso a través del software de dibujo vectorial Microsoft Visio R (ver Figura 2).

Dentro de la fase de Trabajo de Campo:

- Recogida y análisis de los datos. Mediante la definición de diversos indicadores propios de funcionamiento (procesos, resultados y seguridad) permitirá el control de cualquier desviación y la posibilidad de implantar medidas correctoras.



Figura 1. Mapa de procesos

Los procesos operativos más relevantes de la Unidad se encuentran en color amarillo, en tanto que los estratégicos del hospital, se hallan en azul y los de soporte en color verde. Nuestro objeto de estudio lo conforma el proceso remarcado en rojo de la figura.

El diagrama de flujos diseñado para el proceso de litotricia, integra todas las actividades administrativas, asistenciales facultativas y de atención de enfermería que implican al paciente desde que llega hasta que abandona la Unidad.

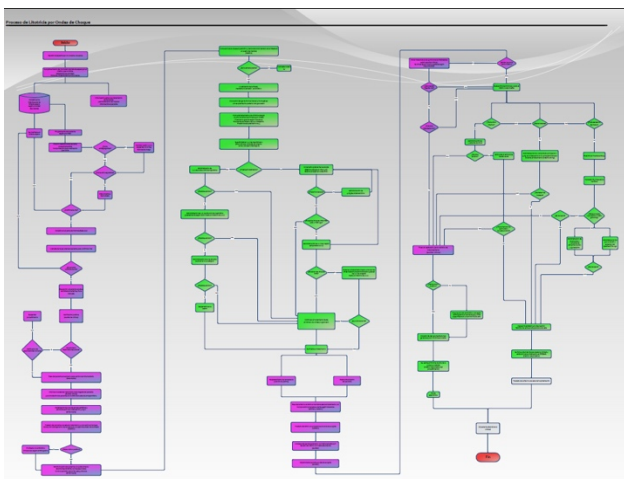


Figura 2. Diagrama de flujo del proceso de litotricia

Inicialmente, es tarea de enfermería revisar los documentos y verificar la cita para el proceso concreto de litotricia extracorpórea. Con la recepción del paciente a la unidad, será llamado en su turno para el cambio de indumentaria y comenzar con el tratamiento. Previamente al inicio de la sesión, se le deberá suministrar vía parenteral la medicación recogida el diagrama del proceso. Una vez en la sala de tratamiento, se le monitorizará y colocará en la mesa o camilla del litotriptor para así localizar la litiasis. Al terminar el tratamiento, se le trasladará a la sala de acogida donde deberá permanecer hasta encontrarse el paciente asintomático. Y si no existen complicaciones que requieran de hospitalización, el paciente abandonará la unidad con un informe que incluirá las recomendaciones post-tratamiento.

Como medidas de control o de evaluación del proceso se definieron los siguiente cinco indicadores:

- Número de pacientes tratados con litotricia extracorpórea (Estándar $\geq 700/\text{año}$).
- Tiempo de resolución de la litiasis tratada inicialmente con litotricia extracorpórea (Estándar $\geq 90\%$ Antes de los 6 meses).
- Índice de suspensiones (Estándar $< 2,5\%$).
- Incidencia de hematoma perirrenal clínico en pacientes tratados mediante litotricia extracorpórea (Estándar $\leq 0,5\%$).²

Para su obtención (excepto para el tiempo de resolución), fueron utilizadas diversas funcionalidades que ofrece el sistema informático Orion Clinic, tanto para el años 2015, como el 2016, lo cual nos permitirá estudiar su evolución.

Para el tiempo de resolución del episodio litiasico se revisaron telemáticamente uno a uno, a través de la plataforma informática Luna (aplicación Mizar versión 2.0), un total de 225 pacientes de protocolo (ver Figura 3), dados en los tres últimos años, con el fin de detectar e identificar las posibles causas que demorarían la resolución global de la litiasis. Almacenados en una base de datos con formato de Hoja Excel (Microsoft Excel Versión 15.11.2).

Figura 3. Hoja extracto protocolo litotricia

Los puntos de control establecidos, y que conformarían la línea del tiempo de resolución litíásica, fueron (ver Figura 4):

- Fecha primera consulta (primera visita a la Unidad)
- Fecha primera sesión. (1º leoc)
- Fecha última sesión. (ultima leoc)
- Fecha consulta resolutoria (litiasis con alto grado de encontrarse resuelta).
- Fecha alta médica. (resolución completa)

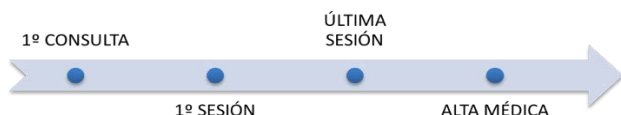


Figura 4. Línea del tiempo del proceso completo

Igualmente resulta de gran interés conocer o evidenciar la posible existencia de una variabilidad en la práctica clínica. La recogida de los datos, en este caso de los tiempos correspondientes a los puntos de control de la modalidad concreta de tratamiento (ver Figura 5), se realizó de manera prospectiva y a tiempo real, alcanzándose un total de 100 pacientes (Mayo 2016) tratados con litotricia, almacenados del mismo modo, en una nueva base de datos en formato Hoja Excel.

Los puntos de control establecidos para este caso fueron:

- Hora de paso a sala de antequirófano. (entrada para preparación tratamiento)
- Hora de entrada en sala de tratamiento (paso y comienzo de tratamiento)
- Horas de entrada y salida en sala de acogida (acogida post-tratamiento)



Figura 5. Puntos de control del proceso litotricia

El análisis del total de los tiempos registrados ha sido posible mediante el software estadístico Sps (Versión 15.0). Las variables cuantitativas fueron resumidas mediante la media y el IC9, mientras que las variables cualitativas lo fueron mediante el n(%).

Para la evaluación de la satisfacción del paciente, se les entregan encuestas de calidad percibida, al finalizar la primera consulta a la Unidad.³

Figura 6. Encuesta de opinión litotricia

4. Resultados

Los valores obtenidos para los indicadores del proceso, siendo el valor basal el correspondiente para el año 2015, son los siguientes:

Indicador	Valor basal	Valor actual	Cumplimiento
Núm. Pacientes tratados	1052	1199*	Si
% resolución < 6meses	61	50	No
Índice de suspensiones (%)	2,35	1,85	Si
Incidencia hematoma (%)	0	0,4	Si

* Valor Estimado

Tabla 1. Revisión de indicadores

Para conocer las causas que limitan el porcentaje de pacientes resueltos en menos de 6 meses nos vamos al análisis, por un lado, de la revisión de protocolos, y posteriormente al de la monitorización del proceso.

Indicador	Tiempo obtenido (meses)	Desviación
Tempo total 1º visita-alta medica	10,32	Si
Duración sesiones tto	3,03	Si
Demora tiempo para alta médica	4,47	Si

Tabla 2. Desviaciones del proceso completo

Observamos que para resolver un episodio litíásico se requieren 10 meses aproximadamente de tiempo promedio. La mitad si restamos la demora en el tiempo hasta que concede el alta médica.

Para intentar corregir estas dilataciones en el tiempo proponemos una citación preferente tanto del paciente que requiere de una revisión en consulta médica como de las sesiones de litotricia sucesivas.

Indicador	Tiempo obtenido (meses)	Desviación
Tempo sala antequirófono	31,62	No
Tempo sala tto	48,15	No
Tempo sala acogida	24,35	No

Tabla 3. Desviaciones del tratamiento

Aunque no supongan desviaciones de gran envergadura, sería recomendable repasar y revisar el proceso completo de litotricia con el personal interno de la Unidad, en orden de disminuir la espera del paciente para el paso a la sala de tratamiento e inicio del mismo. Por otro lado, el tiempo transcurrido en la sala de acogida, podría justificarse con el estado del paciente post-tratamiento, que incluye mareos y náuseas, entre otros posibles efectos adversos.

Para detectar la posible existencia de variabilidad en la práctica clínica de la Unidad, distinguimos según el personal médico de la misma.

Indicador	Tempo total sala tto	Tempo de tto	Dif.
Médico 1	50,46	64,04	13,61
Médico 2	51,08	65,41	13,33
Médico 3	46,76	57,62	10,86
Medico 4	44,95	55,85	10,9

Tabla 4. Indicadores según medico

Quedando de manifiesto una variabilidad clínica entre profesionales de hasta 3 minutos.

Finalmente, las encuestas de evaluación de calidad percibida por el paciente muestran los siguientes resultados:

Aspectos encuesta	Valor basal (%satisfacción)	Valor posterior (%satisfacción)
Trato	>90	100
Confort	>80	99,21
Accesibilidad	>90	95,28
Seguridad	>90	99,51
Información	>80	98,35
Satisfacción global	>90	97,04

Tabla 5. Encuestas de calidad percibida por el paciente

La calidad percibida por el paciente se ha visto incrementada en aquellos aspectos en los que la valoración era inferior en una determinación basal previa a la implantación del proceso (Año 2014).

5. Conclusiones

La implantación y monitorización del subproceso de Litotricia Extracorpórea ha permitido mejorar la accesibilidad del paciente, incrementar el rendimiento del proceso e identificar una variabilidad en su aplicación entre los diferentes profesionales de la Unidad. Las medidas a aplicar deben a ir dirigidas a disminuir la variabilidad y a reducir el tiempo global de resolución.

Asimismo ha puesto de manifiesto un conjunto de deficiencias en los sistema informático, las cuales se podrían subsanar con el manejo de una herramienta BPM (Business Process Management) de modo que permita gestionar grandes volúmenes de información lo mas eficaz y eficientemente posible.

Referencias

- [1] Bru, Juan. *Gestión de Procesos y Operaciones*. Curso de Especialista Universitario en Gestión de Enfermedades. Sistemas de Información y Gestión de Procesos y Calidad en la Gestión de Enfermedades. Máster en Dirección y Organización de Hospitales. 185p.
- [2] Consejería de Salud. Junta de Andalucía. Guía de diseño y mejora coninua de procesos asistenciales: calidad por sistema. Sevilla 2001.
- [3] Bronzino Bernhard Hitpass BPM: Business Process Management Fundamentos y Conceptos de Implementación. 3a Ed. BHH Ltda. Santiago de Chile. 2014
- [4] López Acon, D. (2015) Desarrollo e implantación del subproceso de Primera Visita en una Unidad de Litotricia y Endourología de un hospital terciario [Abstract].

Aplicación de la Metodología E-UNIHEALTH para el diagnóstico de la depresión en un contexto universitario específico

S. Asensio-Cuesta¹, A. Bresó², C. Saéz^{1,2}, J.M. García-Gómez¹, E. Cabrera³, R. Prieto⁴

¹Instituto Universitario de Aplicaciones de las Tecnologías de la Información y de las Comunicaciones Avanzadas, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, sasensio@dpi.upv.es, carsaesi@ibime.upv.es

²Veratech for Health SL, Valencia, Spain, adbregua@veratech.es

³Universidad Politécnica de Tulancingo, Tulancingo, México

⁴Departamento de Proyectos de Ingeniería, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, re.prietog@gmail.com

Resumen

En la actualidad, la depresión supone un importante problema de salud de consecuencias personales, sociales y económicas. Dicha problemática, unida al impulso de las TIC en las últimas décadas, ha promovido el desarrollo de nuevos sistemas para la prevención y tratamiento de la depresión.

En el ámbito clínico es frecuente la evaluación de la depresión mediante cuestionarios estándar. Dichos cuestionarios han sido validados durante décadas. Sin embargo, con frecuencia su validez se extrapola a su implementación mediante TIC, sin considerarse aspectos tales como las consecuencias de los cambios introducidos en el procedimiento clínico estándar de aplicación, el contexto del sistema, o la experiencia del usuario con la tecnología empleada.

El presente trabajo describe la validación de un sistema TIC para la evaluación de la depresión aplicando la Metodología E-UNIHEALTH. El sistema evalúa online el nivel de depresión de un usuario al tiempo que recopila información emocional durante el proceso. La evaluación de la depresión se basa en el cuestionario Beck II, mientras que el registro emocional aplica técnicas de reconocimiento facial de emociones a través de Webcam. El contexto específico seleccionado para la validación del sistema es la Universitat Politècnica de Valencia, centrándose la primera fase de su validación en el grupo de profesores universitarios "no funcionarios". El sistema desarrollado se integra en el Portal E-UNIHEALTH dedicado a la prevención de la depresión. Los primeros resultados apuntan hacia la validez del sistema online para su aplicación en el contexto docente universitario y abren el paso a la ampliación del estudio.

1. Introducción

En el ámbito de la Salud Mental, las intervenciones a través de TIC presentan una serie de ventajas con respecto a las intervenciones presenciales (cara a cara), tales como: son de fácil acceso, sin largas listas de espera; disponible 24/7 para las personas en su propio entorno y ritmo de trabajo; permiten a los usuarios permanecer en el anonimato, sin necesidad de adoptar un papel paciente; no requieren necesariamente la participación de un terapeuta formado en la atención y son menos costosas [1, 2].

En relación a la depresión, los sistemas basados en TIC pueden ayudar a superar los principales obstáculos relacionados con dicha enfermedad: el miedo al estigma, la falta de tiempo, largos tiempos de espera, la distancia

geográfica a los servicios de salud mental, o la falta de voluntad para revelar problemas psicológicos [3].

En los últimos años, diversos estudios en Salud Mental han comparado directamente los resultados de intervenciones computarizadas con los obtenidos con intervenciones cara a cara. En la mayoría de los casos no se encontró diferencias significativas entre los dos tipos de intervenciones. En relación a los cuestionarios online algunos estudios han demostrado que el formato online produce resultados tan válidos como los realizados cara a cara. Sin embargo, persiste la pregunta de si las terapias basadas en TIC para la depresión son igualmente beneficiosas para los pacientes que los tratamientos cara a cara [4], por lo que requieren validaciones sistemáticas.

El presente trabajo describe el proceso de validación de un sistema online integrado en el Portal E-UNIHEALTH [5] dedicado a la prevención de la depresión. Dicho sistema online permite determinar el nivel de depresión de un usuario mediante el cuestionario Beck II, así como registrar sus emociones durante la prueba aplicando reconocimiento facial. En el proceso de validación se comparan los resultados del sistema online con los obtenidos con evaluaciones cara a cara, en el contexto específico de la comunidad docente de la Universitat Politècnica de València (UPV).

2. Método

La validación se realiza aplicando la metodología E-UNIHEALTH centrada en la evaluación de sistemas TIC aplicados al ámbito de la depresión [6]. Dicha metodología define las siguientes etapas: (1) definición del contexto, (2) definición del perfil de los usuarios, (3) selección del método de evaluación de la depresión y procedimiento de validación, (4) definición de las TIC a utilizar y procedimiento de validación, (5) recopilación y procesamientos de datos de validación, y (6) definición de los requerimientos del sistema.

2.1. Definición del contexto y perfiles de usuario

En la metodología E-UNIHEALTH se define contexto como un entorno o situación en la que se considera un hecho. El contexto explica a menudo parte del hecho y

ayuda a la comprensión del mismo. En base a dicha definición en el presente estudio se ha establecido como contexto a la comunidad docente universitaria de la UPV.

Dentro del contexto UPV para la primera fase de la validación se ha seleccionado el perfil de profesorado “no funcionario”: Contratado Doctor (COD), Contratado Doctor Interino (CODI), Asociado (ASO). (COD, ASO, Ayudante Doctor (AYUD), y Ayudante (AY). La elección de dicho colectivo se fundamenta en los resultados de un estudio previo realizado en la Universitat Jaume I que señalaba en este grupo un mayor riesgo de depresión [7].

Los datos recopilados sobre el perfil de los usuarios son: Universidad, Centro docente, Grupo, Categoría laboral, Máxima Categoría Acreditada, Año de contrato de la categoría actual, Tipo de docencia que imparte, Edad y Sexo.

2.2. Método de evaluación de la depresión

El método seleccionado para la evaluación de la depresión implementado en el sistema ha sido el cuestionario Beck-II [8], en su versión traducida al español [9]. Se trata de un cuestionario validado por la comunidad clínica y de frecuente aplicación. El Beck-II es un auto-informe que proporciona una medida de la presencia y de la gravedad de la depresión en adultos y adolescentes de 13 años o más. Se compone de 21 ítems indicativos de síntomas tales como tristeza, llanto, pérdida de placer, sentimientos de fracaso y de culpa, pensamientos o deseos de suicidio, pesimismo, etc. Cada ítem se responde en una escala de 4 puntos, de 0 a 3, excepto los ítems 16 (cambios en el patrón de sueño) y 18 (cambios en el apetito) que contienen 7 categorías. Si una persona ha elegido varias categorías de respuesta en un ítem, se toma la categoría a la que corresponde la puntuación más alta. Las puntuaciones mínima y máxima en el test son 0 y 63. Se han establecido puntos de corte que permiten clasificar a los evaluados en uno de los siguientes cuatro grupos: 0-13, mínima depresión; 14-19, depresión leve; 20-28, depresión moderada; y 29-63, depresión grave [10].

Por otra parte, durante la evaluación Beck-II el sistema registra las emociones del usuario, para ello aplica un método de reconocimiento facial de emociones a partir de imágenes tomadas mediante webcam. Con ello se pretende analizar la relación entre niveles de depresión y emociones del usuario.

2.3. Procedimiento de validación

El principal objetivo de la validación es determinar si el uso del sistema online centrado en el diagnóstico de la depresión, genera unos resultados clínicos similares a los obtenidos por ese mismo sistema de manera presencial (o tradicional), apoyado por un clínico. También se desea analizar si la respuesta emocional del participante durante la interacción es similar para ambos escenarios. Para ello, se ha definido una evaluación de una misma población mediante el cuestionario Beck-II en dos escenarios diferentes: **presencial** y **online**. Los participantes deben realizar primero la evaluación en el escenario online y con un plazo máximo de tres días, realizar la evaluación en el escenario presencial. Los resultados obtenidos han sido

comparados con el fin de poder estudiar las diferencias existentes entre ambos escenarios.

Los participantes son voluntarios reclutados mediante una invitación vía email. La invitación incluye una breve descripción del estudio, así como un documento adjunto correspondiente a la “Hoja de invitación del paciente”, con información detallada sobre la prueba y el criterio de inclusión y exclusión. En la invitación se indica a los usuarios el requisito de disponer de Internet y Webcam. Los participantes muestran su interés en el estudio contactando por email con el coordinador del Proyecto. El coordinador envía un correo con descripción de los pasos de la prueba, y el acceso a al sistema online. Además, se acuerda vía email o telefónica la fecha para la realización de la evaluación presencial.

En el escenario online el participante no tiene soporte por parte del clínico. El participante accede a través de internet al sistema E-UNIHEALTH para registrarse y realizar el cuestionario Beck-II de evaluación. Al inicio, el sistema explica al paciente el procedimiento de evaluación y advierte del uso de la Webcam, la cual analiza las emociones faciales del participante durante la realización de la evaluación. Al finalizar la evaluación, el sistema agradece al usuario su participación y no muestra ningún resultado de la misma.

El escenario presencial ha sido definido de una manera similar al escenario tradicional de una terapia, en el que un clínico se convierte en el director de la interacción con el paciente. En este escenario, únicamente el clínico hace uso del sistema E-UNIHEALTH, limitándose a leer la información que aparece para que no se produzca ningún tipo de sesgo respecto al escenario online. El clínico registra en el sistema las respuestas del participante. Además de registrarse la información clínica, el sistema también registra de forma automática las emociones faciales del paciente durante la interacción.

Al finalizar la evaluación, el participante rellena un formulario de forma anónima respondiendo a las siguientes cuestiones: *¿Cuál de las dos evaluaciones te ha agradado más? (Online/Presencial); ¿Cómo calificarías la evaluación online? (Mala/Regular/Buena/Muy Buena); ¿Cómo calificarías la evaluación presencial? (Mala/Regular/Buena/Muy Buena).*

2.4. Definición de las TIC a utilizar y procedimiento de validación

El sistema implementa el cuestionario Beck-II en formato online y se integra en el Portal E-UNIHEALTH [5]. El sistema se basa en las siguientes TIC: (1) TIC entorno de desarrollo: Internet, WordPress, Plesk, MySQL, HTML5, Microsoft Emotion API; (2) TIC entorno de usuario: Internet, Navegadores, Webcam.

Dado que se trata de TIC ampliamente validadas, tanto desde la perspectiva de desarrollo como de usuario, no se requiere definir un procedimiento específico de validación de las mismas. Más aún cuando el contexto de validación para los usuarios es una universidad politécnica.

3. Resultados

3.1. Encuestas

En el presente estudio, 7 participantes realizaron un total de 13 evaluaciones; 7 evaluaciones online y 6 presenciales. Uno de los participantes no completó la evaluación presencial, y para otro usuario no se registró correctamente los datos de la prueba presencial. Los datos de 5 participantes fueron finalmente analizados, correspondientes a 3 mujeres y 2 hombres, con tipo de docencia todos en Grado, 3 en Master y 1 en Doctorado. Dos de ellos con acreditación superior al puesto ocupado. La Tabla 1 muestra los datos registrados en los dos escenarios online y presencial.

Variable	Descripción	Escenario fuente	Rango valores
Q1 - Q21	Valor de las 21 respuestas del cuestionario	O/P	Entero: 0-3
Beck-II	Puntuación del resultado del cuestionario	O/P	Entero: 0-63
Nivel Beck-II	Diagnóstico del resultado del cuestionario	O/P	Entero: 0 (mínima), 1 (leve), 2 (moderada), 3 (grave).
Emoción Predominante	Emoción predominante durante la interacción	O/P	Categorico: felicidad, tristeza, neutral, sorpresa, miedo, asco, desprecio, enfado.
EFR	Factor de riesgo emocional (Emotional Risk Factor)	O/P	Real:]0,1]
DRL	Nivel de riesgo de depresión (Depression Level Risk)	O/P	Real:]0,1]
DEF	Factor emocional de depresión (Depression Emotional Factor)	O/P	Real:]0,1]
Valoración Escenario	El participante evalúa la experiencia de cada escenario	P	Entero: 0 (malo), 1 (regular), 2 (bueno), 3 (muy bueno).
Preferencia	El participante indica cual ha sido el mejor escenario	P	Categorico: Online, Presencial.

Tabla 1. Datos registrados mediante los escenarios. Escenario fuente: Online (O), Presencial (P). Ver la definición de EFR, DRL y DEF en [12].

3.2. Pruebas estadísticas entre escenarios

Para las variables ordinales (*Beck-II*, *Valoración*, *DRL*, *Nivel Beck-II*, *EFR* y *DEF*) se ha utilizado la Prueba de los Rangos con Signo de Wilcoxon (bilateral) para evaluar la hipótesis nula de que la media de las diferencias entre los dos pares de mediciones es cero con un nivel de significancia del 5%. Para todas las variables, se ha obtenido que no existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula y, por tanto, no podemos decir que las dos muestras son diferentes.

Para las variables numéricas (*DRL*, *EFR*, *DEF*) se ha aplicado el t-test pareado (bilateral) para evaluar la hipótesis nula de que la media de las diferencias entre los dos pares de mediciones es igual a cero con un nivel de significancia del 5%. En esta ocasión también se ha concluido que no existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula, por lo que no es posible afirmar que ambos escenarios sean diferentes.

Por último, para la variable nominal *Emoción Predominante*, se ha utilizado el Test de McNemar (grabamos dos valores diferentes) para evaluar cualquier diferencia significativa entre las categorías respondido entre los dos pares de mediciones. Se observa que no ha habido evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula y, por tanto, las dos muestras son diferentes.

La Tabla 2 muestra los resultados obtenidos para los diferentes test aplicados.

Variable	p-valor	H ($\alpha=0.05$)	Test
Beck-II	0.3125	0	PRS Wilcoxon
Valoración	0.25	0	PRS Wilcoxon
DRL	0.3125	0	PRS Wilcoxon
DEF	0.4375	0	PRS Wilcoxon
Nivel BECKII	1	0	PRS Wilcoxon
EFR	0.0625	0	PRS Wilcoxon
DEF	0.349	0	t-test pareado
EFR	0.07	0	t-test pareado
DRL	0.2768	0	t-test pareado
Emoción Predominante	1	0	McNemar

Tabla 2. Resultados de los test estadísticos para comprobar diferencias entre los escenarios online y presencial. $H=0$ no se rechaza la hipótesis nula.

Pese a no haber encontrado diferencias estadísticamente significativas, los resultados permiten establecer las siguientes afirmaciones:

- Ningún participante obtuvo la misma puntuación del cuestionario de Beck-II en ambos escenarios. En el 80% de los casos los participantes obtuvieron mayor puntuación del test en el escenario online que en el escenario presencial.
- En sólo uno de los cinco participantes se obtuvo un nivel de depresión de Beck diferente entre ambos escenarios: ‘*Depresión Leve*’ en el

presencial y ‘Depresión Moderada’ en el online. En el resto de casos, siempre se obtuvo el nivel ‘Depresión Mínima’.

- En el 90% de los casos (100% en el escenario online, y 80% en el presencial), la emoción facial predominante registrada en las evaluaciones fue la neutral. Se observa menor actividad en la expresión facial en el escenario online.
- En el 80% de los participantes indicó el escenario presencial como su favorito. El 100% de los usuarios indicaron sobre el escenario presencial la valoración ‘Muy Buena’. Mientras que para el escenario online, el 60% indicó ‘Buena’ y el 40% ‘Muy buena’.

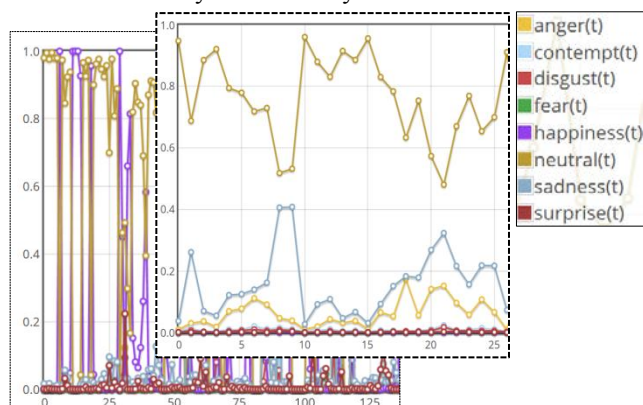


Tabla 3. Registro de emociones de un participante en entorno presencial (fondo) y online (frente).

4. Discusión

Los resultados de este estudio señalan la validez de la evaluación online en el contexto docente universitario de la UPV. Sin embargo, se aprecian ligeras variaciones que apuntan a que en la evaluación online los usuarios tienden a indicar un mayor grado de depresión. Dicha variación podría ser debida al anonimato o falta de voluntad para revelar problemas psicológicos al clínico. Así pues, se considera necesario profundizar en la validación del sistema realizando un mayor número de evaluaciones, en base a lo cual, poder determinar la variación con mayor precisión. Dicha variación permitiría, por ejemplo, definir el “coeficiente de corrección online” a aplicar al nivel de depresión indicado por el cuestionario Beck II en su formato online.

5. Conclusiones

El sistema online integrado en E-UNIHEALTH ha sido evaluado en un entorno real. La validez clínica del sistema online ha sido comparada respecto a un método tradicional presencial. Adicionalmente, también se han comparado las respuestas emocionales de los participantes durante el desarrollo de la evaluación para ambos escenarios.

En general, los resultados de la evaluación se muestran diferentes entre ambos grupos pero no reflejan evidencias significativas debido a la limitación del número de participantes principalmente. Estos primeros resultados han establecido la metodología de validación a seguir y

dan pie para continuar con una evaluación mayor, en la que poder determinar de una manera más significativa la validez del sistema propuesto frente a un método presencial en el que un clínico dirige la interacción. También se debe profundizar en el análisis de las emociones registradas en cada entorno.

Agradecimientos

Los autores agraden el apoyo a la presente investigación del Instituto Universitario de Aplicaciones de las Tecnologías de la Información y de las Comunicaciones Avanzadas (ITACA) y del Vicerrectorado de Responsabilidad corporativa de la UPV.

Referencias

- [1] Andersson G, Cuijpers P. Internet-based and other computerized psychological treatments for adult depression: a meta-analysis. *Cognitive Behaviour Therapy*, Vol 38, 2009, pp 196-205.
- [2] Spijkerman MPJ, Pots WTM, Bohlmeijer ET. Effectiveness of online mindfulness-based interventions in improving mental health: A review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Clinical Psychology Review*, Vol 45, 2016, pp 102-114 (ISSN 0272-7358).
- [3] Collins KA, Westra HA, Dozois DJ, Burns DD. Gaps in accessing treatment for anxiety and depression: challenges for the delivery of care. *Clinical Psychology Review*, vol 24, 2004, pp 583-616.
- [4] Birgit W., Horn AB, Maercker A. Internet-based versus face-to-face cognitive-behavioral intervention for depression: A randomized controlled non-inferiority trial. *Journal of Affective Disorders*, vol 152-154, 2014, pp 113-121.
- [5] Portal E-UNIHEALTH: Prevención de la depresión. <http://www.e-unihealth.upv.es>, (Consultada: septiembre 2016).
- [6] Asensio-Cuesta S, Adrián Bresó A, Rafael Prieto R, Cabrera Solís E. A Methodology to Guide IT Tools Development for Depression Assessment within a Specific Context. *ITACA-WIICT 2016*, 2016.
- [7] Cifre E, Llorens S. Burnout en profesores de la UJI: un estudio diferencial. *Fòrum de Recerca*, vol 7, 2002.
- [8] Beck AT, Steer RA, Ball R, Ranieri WF. Comparison of Beck Depression Inventories-IA and-II in psychiatric outpatients. *Journal of personality assessment*, vol 67, sup 3, 1996, pp 588-597.
- [9] Beck AT, Steer RA, Brown GK. Manual. BDI-II. Inventario de depresión de Beck-II (Adaptación española: Sanz, J., y Vázquez, C.). Madrid: Pearson Educación, 2011 (ISBN: 9788493931544).
- [10] Evaluación del inventario BDI-II. Colegio Oficial de Psicólogos. <https://www.cop.es/uploads/PDF/2013/BDI-II.pdf>. (Consultada: septiembre 2016).
- [11] Stuhmann A, Suslow T, Dannlowski U. Facial emotion processing in major depression: a systematic review of neuroimaging findings. *Biol Mood Anxiety Disord*, vol 1, 2011.
- [12] Cabrera E, Asensio-Cuesta S, Prieto R, Bresó A. A facial expression recognition tool to aid in Depression Assessment. *ITACA-WIICT 2016*, 2016.

Desarrollo de una plataforma web para el acceso interactivo a una base de datos SQL con información biológica de competiciones deportivas

A. López del Río¹, M. Maqueda González^{1,2}, E. Roca Rodríguez^{3,4}, A. Perera-Lluna^{1,2}

¹Dep. ESAIL, Universidad Politécnica de Cataluña (UPC), Barcelona, España. angela.lopez.delrio@gmail.com
maria.maqueda@upc.edu alexandre.perera@upc.edu

²Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), España.

³Summit 2014 S.L., Centelles, Barcelona, España. emma@emmaroca.com

⁴Dep. EEL, Universidad Politécnica de Cataluña (UPC), Barcelona, España.

Resumen

En este artículo se describe el desarrollo de una aplicación web mediante R que permite acceder fácilmente a la información almacenada en una base de datos SQL compleja construida a partir de datos fisiológicos de rendimiento y genéticos de cinco carreras diferentes de ultra-trail, constituyendo una población total de estudio de 170 participantes. Esta aplicación ofrece el acceso interactivo a las diferentes tablas de la base de datos, muestra información estadística y descriptiva de los datos almacenados y permite la visualización de gráficas de evolución y modelos de tendencia construidos a partir de los mismos.

El objetivo de esta aplicación es extender el uso de esta información y su análisis a todos los implicados en la investigación en este ámbito, y a largo plazo, desarrollar un repositorio de datos fisiológicos en intervenciones deportivas y permitir la investigación multi-prueba en deporte de élite.

1. Introducción

Los deportes de resistencia son cada vez más populares. El número de participantes en maratones y ultra-maratones aumenta cada año, ya tengan lugar en asfalto o en ambiente montañoso (*trails* y *ultra-trails*) [1]. Sin embargo, la respuesta adaptativa del cuerpo humano a estas actividades tan exigentes físicamente y el efecto que esta pueda tener sobre la salud, especialmente si la persona no está suficientemente entrenada, apenas se conocen a día de hoy. Para tratar de cubrir esta cuestión surge el proyecto SUMMIT liderado por la deportista de élite Emma Roca [2]. El principal objetivo de este proyecto es determinar si la población que practica deporte de alta intensidad durante un largo periodo de tiempo tiene un mayor riesgo de salud que la población media. Con este propósito, se estudian las diferencias entre ambas poblaciones a distintos niveles fisiológicos. Sin embargo, el proyecto SUMMIT se tiene que enfrentar a diferentes problemas. El protocolo de adquisición seguido en cada estudio es diferente, por lo que los datos están agregados por competición, lo que lleva a una investigación disgregada. Como consecuencia, la integración entre datos de diferentes estudios aún no ha sido llevada a cabo, incluso aunque esto conduciría a la obtención de conclusiones más robustas.

El objetivo de este trabajo es la construcción de una base de datos SQL a partir de datos biológicos heterogéneos recogidos en cinco carreras diferentes de *trail*, y la

implementación de una aplicación web interactiva para proporcionar el fácil acceso y la diseminación de la información almacenada en esta base de datos.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Una población total de 170 participantes (121 hombres y 49 mujeres) fue recogida a partir de cinco carreras de *trail* y *ultra-trail* diferentes enmarcadas en el proyecto SUMMIT. Las características de las competiciones estudiadas están resumidas en la Tabla 1.

Tabla 1. Características de las competiciones

Competición	Fecha	Dist ¹ [km]	Participantes	Edad [años]
Cavalls de Vent	28/09/2012	82	17 (M= 12, F=5)	M: 38.2±4.3 F: 38.6±2.2
			39 (M=20, F=19)	M: 48.1±27.6 F: 34.9±10.4
Gran Vuelta a la Cerdanya	09/06/2013	35	48 (M=30, F=18)	M: 36.9±7.8 F: 35.1±6.7
			25 (M=18, F=7)	M: 37.3±4.4 F: 34.7±3.5
			1 (M=1, F=0)	M: 41.0±0.0 F: -
Ultra-Trail Barcelona	26/04/2014	69	4 (M=4, F=0)	M: 31.5±10.7 F: -
			5 (M=4, F=1)	M: 40.5±3.4 F: 41.0±0.0
Transvulcania	11/05/2014	74	10 (M=9, F=1)	M: 38.8±6.6 F: 41.0±0.0
			15 (M=15, F=0)	M: 39.0±4.2 F: -
Camí de Cavalls	15/05/2015	185	24 (M=24, F=0)	M: 40.5±7.0 F: -

¹Dist: Distancia cubierta en cada carrera

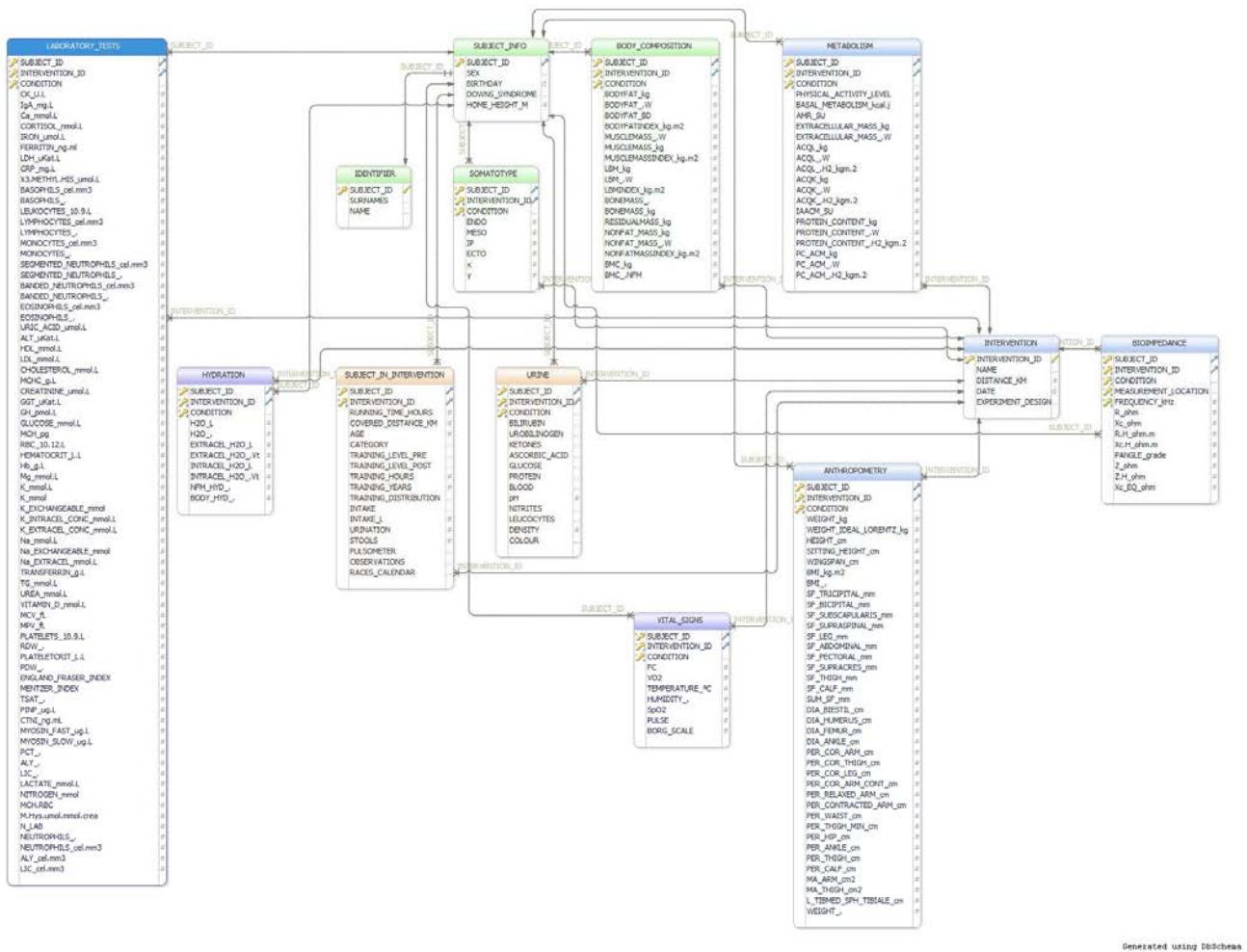


Figura 1. Esquema de entidad-relación de la base de datos. Los símbolos de llaves doradas representan las claves primarias, las líneas representan las claves foráneas (indicando la tabla a la que se refieren). El símbolo en la parte derecha de la columna simboliza el tipo de dato (t-texto, #-número, d-fecha)

En todos los casos, los participantes dieron su consentimiento para participar en el estudio. Estos se sometieron a distintos tipos de análisis, incluyendo cuestionarios, exámenes de su capacidad física, análisis genético, medidas antropométricas y de bioimpedancia o análisis de sangre, orina y saliva. Todos estos datos fueron recogidos antes y después de la carrera, y en algunos casos, hubo un seguimiento a las 24 y a las 48 horas.

2.2. Construcción de la base de datos

Se construyó una base de datos en SQL a partir de esta información, almacenada en MariaDB. Todas las variables disponibles fueron estudiadas y se agruparon en base a su relación clínica. Para mantener su privacidad, se asignó a los sujetos un número identificador en lugar de utilizar sus nombres, estando el acceso a esta tabla identificativa limitado para cualquier usuario distinto al administrador. Se diseñó una base de datos compuesta por trece tablas diferentes. Cada instancia de aquellas tablas que almacenan información clínica per se está identificada por una combinación única de las variables que se refieren al sujeto, la carrera y el punto temporal en el que los datos fueron tomados (clave primaria). En la Figura 1 se muestra el diagrama entidad-relación de la base de datos.

2.3. Desarrollo de la aplicación web

El desarrollo de la aplicación web fue llevado a cabo mediante el software abierto R (v3.2.2) [3], concretamente a partir del paquete *Shiny* desarrollado por RStudio [4]. El acceso y lectura de la información almacenada en la base de datos SQL fue posible mediante el paquete de R *RMySQL*.

En la Figura 2 se puede observar una perspectiva general del proceso de desarrollo de la aplicación web y una descripción de sus diferentes secciones. Brevemente, las tablas SQL son leídas y almacenadas en el entorno general de R para tener un acceso directo e inmediato a ellas desde cualquier componente de la aplicación. A partir de estos datos, la aplicación web es implementada mediante el paquete de R *Shiny*. Por una parte, se define el diseño y la apariencia visual de la interfaz de usuario, y por la otra, los componentes de la aplicación se construyen mediante programación reactiva. Se desarrollan cuatro módulos diferentes: la sección *Datatables*, que permitirá el acceso interactivo a la base de datos y la selección de variables a mostrar; la sección *Summary*, que mostrará información estadística y descriptiva de los datos; la sección *Races*, que cuenta con información específica de cada competición; y la sección *Plots*, que permitirá construir diferentes gráficas

de evolución de las variables y modelos de tendencia a partir de la información almacenada en la base de datos. Para el cálculo de estos modelos de tendencia, la variable seleccionada es normalizada a partir de su valor recogido antes y después de la carrera (PRE y POST respectivamente), con el objetivo de obtener una cifra comparable que represente el porcentaje de cambio experimentado por dicha variable durante la competición:

$$Var_{norm} = \frac{Var_{POST} - Var_{PRE}}{Var_{PRE}} \quad [1]$$

Entonces se construirá modelo de regresión polinómico de segundo grado para explicar el posible comportamiento no lineal de dicha variación, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$f(x) = b_0 + b_1x + b_2x^2 \quad [2]$$

en la que $f(x)$ representa el valor predicho de la variable, que variará de acuerdo con la distancia recorrida (x) de la manera definida por los coeficientes de regresión b_1 y b_2 , y el *intercept* b_0 . Junto con estos coeficientes se calculará su significancia estadística para comprobar si efectivamente la variación de dicha variable sigue comportamiento no lineal o por el contrario, quedaría mejor representado con un modelo de regresión de primer grado ($b_2 = 0$).

Por motivos de seguridad, todas las funciones de la aplicación están limitadas a acceso de solo lectura, de manera que el usuario no pueda modificar la información de la base de datos.

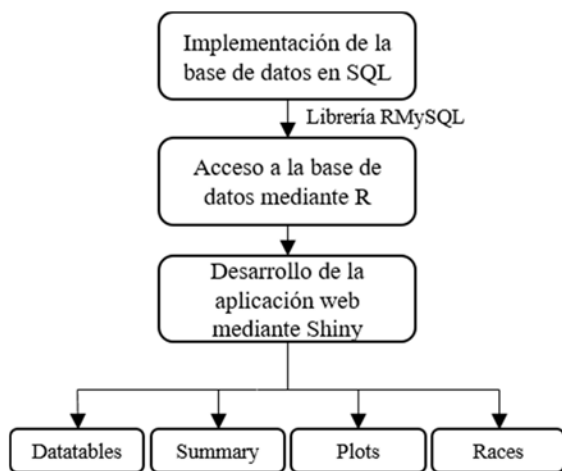


Figura 2. Resumen del proceso de desarrollo de la aplicación web y los módulos disponibles en la misma. Las flechas indican la dirección del flujo de información

3. Resultados

Una aplicación web interactiva fue implementada mediante Shiny.

3.1. Sección *Datatables*

La Figura 3 muestra la interfaz de la sección *Datatables*.

Un menú selector permitirá elegir la tabla a visualizar, y mediante casillas se pueden seleccionar aquellas variables de la tabla seleccionada en cuyos valores el usuario está interesado. La interfaz también permite ordenar la tabla de datos en función del valor de una cierta variable. Dependiendo de la tabla seleccionada, un menú de casillas adicional para seleccionar el instante en el que las variables fueron recogidas (PRE, POST, 24h, 48h) permitirá delimitar aún más la información mostrada, facilitando de esta forma su visualización y análisis. La aplicación también permite exportar en formato *.csv* la selección de variables realizada.

3.2. Sección *Summary*

En la sección *Summary* de la aplicación web un menú desplegable permite elegir la tabla de la cual el usuario pretende obtener más información. Bajo este menú aparecerá un texto descriptivo sobre la información almacenada en la tabla seleccionada. Además, otro menú selector permitirá elegir aquellas variables de las cuales se quiere conocer las propiedades estadísticas básicas, calculadas a partir de los valores recogidos antes de la carrera.

3.3. Sección *Plots*

La sección *Plots* permite analizar gráficamente las variables del conjunto de datos. A través de dos menús desplegables se eligen la tabla y la variable deseadas. El resto de la interfaz dependerá del botón que se presione. La subsección “Evolution of the variable” permite seleccionar si se quieren estudiar los valores PRE o POST de la variable. En el panel principal se muestra la gráfica que representa la variable seleccionada en función de la distancia recorrida, estratificado por género, mostrando tanto los valores individuales como la media resultante para cada distancia recorrida.

En la subsección “Variation between different conditions” se representarán los valores normalizados de la variable seleccionada en función de la distancia recorrida, estratificado por género, además de la tendencia de la variación durante la carrera de dicha variable, todo ello calculado tal y como se explicó en el apartado 2.3. Este submódulo de la aplicación permite seleccionar el tipo de modelo de regresión a construir (cuadrático o lineal) en base a la tabla que se muestra con los valores de los coeficientes de regresión junto con sus niveles de significancia.

En la Figura 4 se puede observar un ejemplo de esta subsección, en el que se ha construido una gráfica que representa la variación del peso que sufre el deportista durante la carrera en función de la distancia recorrida en la misma. La elección de un modelo cuadrático indica que esta variación sigue un comportamiento no-lineal con un punto de inflexión a los 100 km que indica que hasta esta distancia, cuanto mayor es la longitud de la carrera, mayor es la variación del peso sufrida, pero a partir de aquí esta tasa de variación se estabiliza.

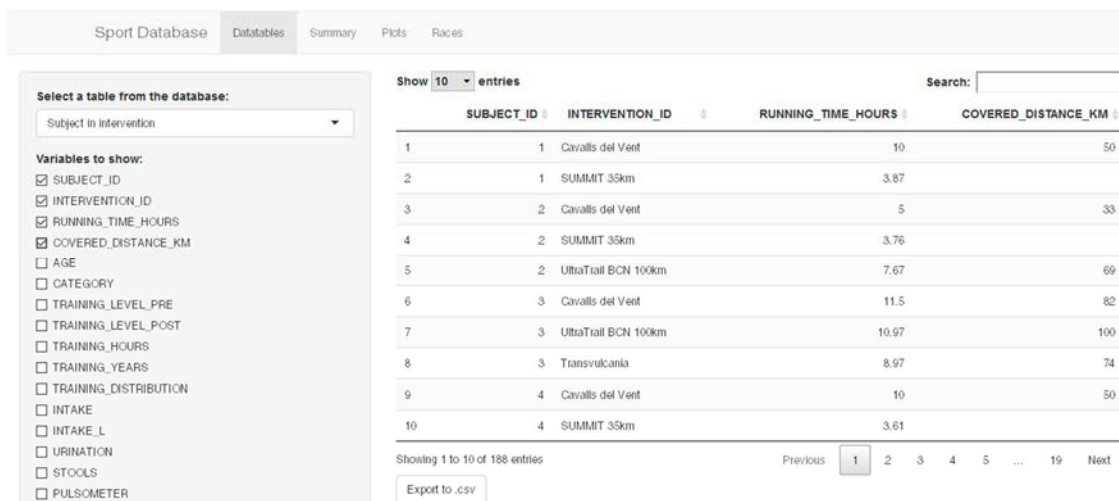


Figura 3. Sección Datatables de la aplicación web

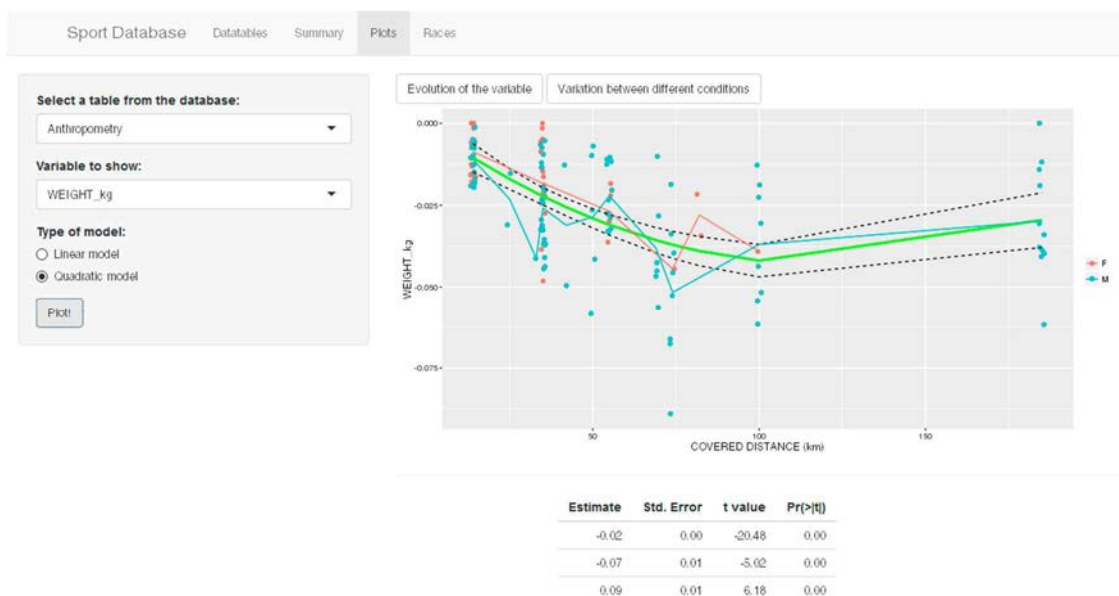


Figura 4. Sección Plots de la aplicación web

3.4. Sección Races

En la sección *Races* de la aplicación web podemos obtener información descriptiva y estadística específica sobre cada una de las competiciones registradas. Distintos menús nos permiten seleccionar la carrera, la modalidad, la tabla y las variables de las cuales queremos obtener información.

4. Conclusiones

Se ha implementado una aplicación web para el acceso a una base de datos integrativa construida a partir de parámetros biológicos recogidos a participantes de *trails* y *ultra-trails*, permitiendo el acceso y la visualización de la información disponible una vez homogeneizada y debidamente organizada a todos los profesionales implicados en la investigación en este ámbito, como médicos deportivos, hematólogos, bioquímicos, o los propios atletas. Se espera en el futuro poder hacer esta base de datos más completa e informativa añadiendo la información recogida en otras competiciones. El objetivo a

largo plazo es que esta base de datos se pueda convertir en un amplio repositorio de parámetros biológicos obtenidos en intervenciones deportivas que podrá contribuir a la investigación de los límites de la salud en la actividad física de alta intensidad o resistencia.

Referencias

- [1] Runningusa.org. (2016). *Statistics | Running USA*. [online] Available at: <http://www.runningusa.org/statistics> [Accessed 22 Sep. 2016].
- [2] Emma Roca SUMMIT (2016). *Emma Roca*. [online] Available at: <http://www.emmaroca.com/> [Accessed 22 Sep. 2016].
- [3] R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.Rproject.org/>.
- [4] RStudio Team (2015). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.

Diseño y validación de un sistema de evaluación de déficits de atención mediante técnicas de eye-tracking

J. Solana Sánchez^{1,2}, A. García Molina³, C. Lafuente^{1,2}, J.L. García³,
J.M. Tormos Muñoz³, E.J. Gómez Aguilera^{1,2}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación (UPM), Madrid, España

{jsolana,clafuente,egomez}@gbt.tfo.upm.es

² Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, España

³ Institut Universitari de Neurorehabilitació Guttmann-UAB, Barcelona, España.

{agarciam,jlgarcia,jmtormos}@guttmann.com

Resumen

El objetivo principal de este trabajo es el diseño de una herramienta que permita la evaluación y el posterior diagnóstico de déficits de atención en pacientes con Daño Cerebral Adquirido (DCA). Esta herramienta es posible gracias a técnicas de eye-tracking en una tarea de tele-rehabilitación en una plataforma por ordenador. Esta tarea se desarrolló con los aspectos definidos por neuropsicólogos del Institut Guttmann, y consiste en una secuencia de 30 parejas de imágenes, que pueden ser iguales o una de ellas puede tener una diferencia. El usuario deberá identificar si existe o no y responder correctamente en cada pantalla. El dispositivo eye-tracking aporta información sobre la atención visual, donde mira en cada momento en la pantalla. Con los datos obtenidos de la tarea se propone un sistema de puntuación que dote a la misma de potencial diagnóstico, clasificando a los usuarios según el resultado de la ejecución. En este trabajo se presentan los resultados de la ejecución de 17 usuarios control y 6 usuarios paciente. Estos datos se han utilizado tanto para validar la tarea, como para distinguir las diferencias entre los dos grupos. También se propone un prototipo de sistema de puntuación en relación a los resultados de estos dos grupos.

1. Introducción

El Daño Cerebral Adquirido (DCA) es el resultado de una lesión cerebral súbita que produce secuelas físicas, psicológicas y/o sensoriales. Estas secuelas desarrollan anomalías en la percepción sensorial, alteraciones cognitivas y alteraciones del plano emocional. [1]

El DCA es la consecuencia neurológica más prominente después de otra enfermedad que afecta al sistema nervioso. Entre estas enfermedades se encuentran los traumatismos craneoencefálicos (TCE), accidentes cerebrovasculares (ACV), tumores cerebrales, hipoxia cerebral o las infecciones cerebrales. [2]

Las secuelas pueden ser muy diversas, destacando la relevancia de las cognitivas y las que afectan a la recepción y procesamiento de información. Algunos problemas de este tipo son transitorios y reversibles, pero otros pueden condicionar la autonomía de la persona permanentemente. Es habitual que las personas con DCA

no sean conscientes de sus secuelas cognitivas y las implicaciones de éstas, haciendo el proceso de recuperación mucho más arduo. [3]. La función cognitiva relevante en ese caso en la atención, entendida como un conjunto de mecanismos que trabajan de forma conjunta para seleccionar estímulos relevantes y planes dirigidos a una meta concreta. La dificultad para sostener la atención o el incremento en los tiempos de reacción son frecuentes en el DCA. Las alteraciones de la atención son más prevalentes en el grupo de afectados hasta 30 años de edad. [4]

La neuro-rehabilitación es el proceso que pretende restituir, minimizar o compensar los déficits funcionales mencionados anteriormente como consecuencia del DCA. Sin embargo, antes de empezar este proceso, es necesario hacer un buen diagnóstico del problema. Sin embargo, el gran número de secuelas del DCA no permite establecer un patrón general de afectación. Así pues, llevar a cabo un buen diagnóstico es esencial a la hora de determinar qué capacidades han sido afectadas y establecer un tratamiento específico para cada paciente. [5]

El proceso diagnóstico es interdisciplinar y conlleva un gran número de pruebas y test. Estos consisten en el estudio del funcionamiento cerebral, que proporciona información funcional de diferentes áreas y sistemas cerebrales [6]. En cuanto al diagnóstico de trastornos específicos de la atención, se utilizan varios test de exploración neuropsicológica. En el Institut Guttmann se utiliza, entre otros, la Búsqueda de Símbolos de la escala de inteligencia Wechsler para niños WISC-V. Esta prueba proporciona una evaluación amplia de la aptitud intelectual general, además de cinco dominios cognitivos específicos que tienen influencia en el desempeño cognitivo del niño. Éste consta de 15 pruebas y en una que calcula el Cociente Intelectual (CI) total. El WISC-IV organiza los ámbitos cognoscitivos de las diferentes capacidades cognitivas en relación con las teorías de la inteligencia actuales [7]. Sin embargo, estas técnicas tradicionales tienen ciertas limitaciones, dado que sólo se trata de una medida cuantitativa respecto a una puntuación establecida.

La tecnología de Eye-tracking es un conjunto de métodos y técnicas que permiten el seguimiento de los movimientos oculares y las fijaciones realizadas durante

una interacción visual en un contexto dado. Para ello, nos servimos de un dispositivo llamado Eye-tracker. Éste calcula con precisión dónde está mirando el individuo gracias a los rayos infrarrojos que rebotan en su pupila y regresan al aparato. Así se obtiene información sobre la reacción visual ante diferentes estímulos. [8]

Con la incorporación de la tecnología se proporciona, no sólo una medida cuantitativa, sino que también aporta información cualitativa con respecto al patrón del movimiento visual y los focos de atención del paciente. El fin de la tarea desarrollada es aportar una herramienta para el diagnóstico de déficits de atención en DCA.

Mediante la integración de dispositivos de eye-tracking se puede obtener la información mencionada anteriormente relacionada con los movimientos oculares del sujeto para valorar los problemas atencionales que pueden producirse.

2. Objetivos

El objetivo principal del trabajo es obtener un sistema diagnóstico que se adecue a los parámetros requeridos en la práctica clínica. Se espera comprobar que los datos del seguimiento de la mirada se correspondan con el estado del paciente. Así, se consigue aportar información objetiva útil que ayude a los neuropsicólogos en su proceso de diagnóstico, clave para el posterior éxito del proceso de rehabilitación.

3. Materiales y Metodología

3.1. Eye-Tracker Tobii EyeX

El funcionamiento de los eye-trackers se basa en las reflexiones de un haz de rayos de luz infrarroja por las diferentes zonas del globo ocular y su posterior captura y computación de la línea de la mirada [10]. El dispositivo eye-tracker utilizado en este trabajo es el Tobii Eye-X. Es un sistema novedoso de la compañía Tobii que se puede integrar en cualquier ordenador con USB 3.0 y sistema operativo Windows 7 o superior. Esto es una gran ventaja, dado que el eye-tracker pasa a ser un complemento que se puede utilizar en diversos ordenadores, siempre que tengan el software apropiado para el mismo. Además, se trata de un dispositivo ligero y portátil, lo que amplía sus posibilidades de uso notablemente. [11]

3.2. Tarea Diferencias

La tarea sobre la que se centra el trabajo es la llamada tarea Diferencias. Es una tarea desarrollada en el entorno de la plataforma de neurorrehabilitación Guttmann Neuro Personal Trainer [12] para la evaluación de déficits cognitivos relacionados con la atención. Esta tarea fue diseñada por los neuropsicólogos del Institut Guttmann, quienes indicaron las especificaciones de la tarea, definiendo los estímulos a mostrar y las imágenes que deberían ser usadas.

La tarea se basa en la sucesión de 30 pantallas con dos imágenes y los botones de respuesta. Estas imágenes pueden ser iguales (estímulo neutro) o diferentes (estímulo modificado). Como se muestra en la Figura 1, las imágenes pueden ser de una cara o de un reloj.

Además, cabe destacar que siempre una de las dos imágenes no tiene modificaciones.

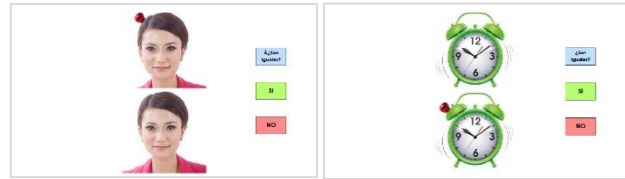


Figura 1: Tarea Diferencias a) estímulo cara b) estímulo reloj

En un primer momento se trabajó con 3 listas diferentes (L1, L2, L3), cuyo propósito era aleatorizar la secuencia de imágenes. Sin embargo, se mostró una diferencia mayor de lo esperado entre las listas, debido al orden de aparición de las pantallas con diferencias. Así, los neuropsicólogos decidieron trabajar con solo una de las listas (L1) para asegurar una homogeneidad en los resultados independiente de la sucesión de estímulos.

3.3. Sujetos de Estudio

Para obtener resultados con los que desarrollar el análisis se realizaron pruebas tanto con sujetos control como con pacientes con DCA.

El grupo de control fue un grupo de 17 personas sanas, sin déficits cognitivos. Estos sujetos se dividieron en 3 grupos que realizarían las 3 listas diferentes. La media de edad de esta población es de 35,17 años con una desviación típica de 13,74 años, y que se compone del 47% de mujeres y el 53% de hombres.

El grupo paciente fue un grupo de 6 niños pacientes del Institut Guttmann en el área de pediatría. Todos sufren DCA provocado por diferentes causas y con déficit de atención diagnosticado mediante procedimientos tradicionales. Estos sujetos solo realizaron la prueba con la L1. La media de edad de este grupo fue de 12,4 años de edad, desviación típica de 2,79 años, con un 33,33% de niñas y un 66,67% de niños.

3.4. Sistema de Puntuación.

Para dotar de valor diagnóstico a la tarea se propone un sistema de puntuación a partir de los datos obtenidos de la tarea para clasificar a los sujetos dependiendo de su ejecución. Se tendrán en cuenta aspectos cuantitativos como los aciertos, errores o el tiempo de respuesta, así como aspectos cualitativos como las zonas en las que el usuario centra su atención.

4. Resultados y discusión

De la ejecución de la tarea se obtiene información sobre el tiempo y las fijaciones que sirven para validar ciertas hipótesis sobre la tarea. Además, sirven para comparar los dos grupos de sujetos de estudio y obtener las diferencias que darán lugar al sistema de puntuación.

En el contexto de este trabajo, se centrará la atención en las fijaciones, que son los datos que permiten el estudio de la mirada. Estas fijaciones se producen cuando el ojo se queda relativamente estable durante un periodo de tiempo de entre 200 y 350 ms [9].

4.1. Validación de Hipótesis.

Se han definido una serie de hipótesis, que han sido validadas analizando los resultados obtenidos por los sujetos control..

- **Tiempo de respuesta:** El tiempo de respuesta debe ser similar en las tres listas, dado que se debe reaccionar de manera similar ante los estímulos. El tiempo de respuesta medio para la L1 ha sido de 2,39s, para L2 2,52s y para L3 2,74s, con desviaciones estándar de 1,01s, 1,01s y 0,98s respectivamente. El tiempo total es análogo, teniendo variaciones debidas a las diferentes secuencias de estímulos. Estos tiempo son 71,91s para L1, 75,59s para L2 y 82,18s para L3, con desviaciones estándar de 30,39s, 30,41s y 29,25s respectivamente
- **Tiempo de reacción:** El tiempo de reacción ante una pantalla con estímulos neutros será mayor que ante una con estímulo modificado, dado que se intenta buscar una diferencia que no existe. En los estímulos tipo cara este tiempo es mayor que para el estímulo tipo reloj, dado que el reconocimiento facial es más complejo que reconocimiento de un dibujo. Se observa que para los estímulos neutros de ambos tipos (cara y objeto) el tiempo de reacción es el doble que para los modificados. Para los estímulos neutros el tiempo de reacción medio es de 4,56s, mientras que para los estímulos modificados es de 2,06s.
- **Aprendizaje:** Una de las hipótesis más importantes es que se produce aprendizaje en la tarea. A medida que el sujeto se expone a los estímulos, sabe qué esperar e identifica más rápidamente la diferencia. Se observa cómo el aprendizaje se produce en el primer tercio de la ejecución.

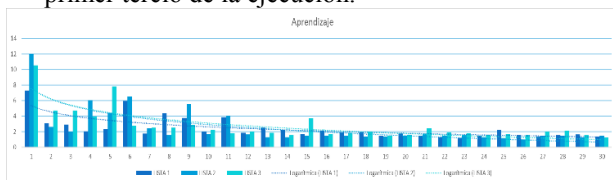


Figura 2: Gráfico de tiempo de reacción por pantalla para las tres listas

En la Figura 2 se observa como en el comienzo de la tarea los tiempos de reacción ante cada pantalla fluctúan y difieren tanto de una pantalla a otra como entre listas. Estas fluctuaciones se producen en el primer tercio de la tarea. También se observa como a partir de este punto los tiempos de reacción se unifican y son similares hasta la finalización de la tarea. Es este aspecto el que indica que se produce aprendizaje. Cada color identifica el tiempo medio total de cada una de las listas.

- **Fijaciones:** Es importante comprobar que las fijaciones se distribuyen uniformemente en las imágenes y en la zona de pregunta y respuestas. Esto se comprueba con los mapas de calor. También se puede corroborar que se produce aprendizaje con estos mapas. En la Figura 3 se observa cómo las

zonas donde se concentran las fijaciones son las zonas de interés: las dos imágenes, la diferencia, la pregunta y las respuestas.

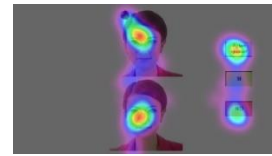


Figura 3: Mapa de calor de una de las pantallas de la prueba

4.2. Comparación con Pacientes

Una vez que se comprueba que los resultados se corresponden con lo establecido, se comparan los resultados control con los pacientes. Dado que los pacientes solo han realizado la L1, se compararán sus resultados con los de los controles que realizaron la L1.

- **Tiempo de respuesta:** Se observa cómo para los pacientes aumenta tanto el tiempo de respuesta medio como el tiempo total. Mientras que para los controles el tiempo de respuesta medio es de 2,39s, para los pacientes este tiempo es 3,38s. El tiempo total medio para controles es de 71,91s, mientras que para pacientes es de 101,4s.
- **Tiempo de reacción:** En ambos casos depende del estímulo. El tiempo de respuesta mayor se corresponden con pantallas sin diferencias entre las imágenes. Se mantiene la diferencia entre pacientes y controles. El tiempo de reacción medio ante estímulos neutros en controles de 4,02s y para pacientes es de 4,96s. Para estímulos modificados,
- **Aprendizaje:** se produce tanto en los controles como en los pacientes. Anteriormente se vio que en los controles se produce en el primer tercio. Sin embargo, en el caso de los pacientes el aprendizaje se retrasa, produciéndose hacia la mitad de la ejecución.

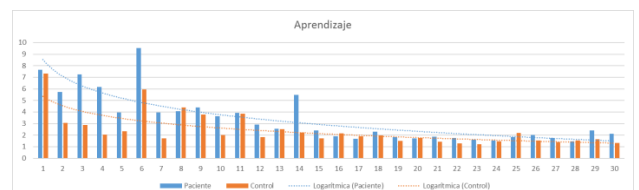


Figura 4: Gráfico de tiempo de reacción por pantalla para controles y pacientes

En la figura 4 se observa como los tiempos de reacción en los pacientes fluctúan durante más pantallas que en el caso de los controles, aunque en ambos casos se estabilizan hasta el final de la tarea. En color azul se representa el tiempo medio total de los pacientes y en naranja el tiempo medio total de los controles.

- **Fijaciones:** Se ha definido unas zonas de interés que rodean tanto las imágenes como el área de la pregunta y los botones de respuesta. Al calcular el tiempo total medio de las fijaciones se observa (en las tablas 1 y 2) como en los pacientes es menor en las zonas de interés que en los controles.

Control	Superior	Inferior	Diferencia	Pregunta	Si	No
Tiempo	24059	19656	5625	2205	2949	4864

Tabla 1: Tabla de tiempo total medio en las zonas de interés en controles

Paciente	Superior	Inferior	Diferencia	Pregunta	Si	No
Tiempo	18599	16316	2700	1153	2784	6322

Tabla 2: Tabla de tiempo total medio en las zonas de interés en pacientes

Esto quiere decir que, aunque desempeñan más tiempo en realizar la tarea, la atención de estos sujetos no está en las zonas de importancia, es decir, podríamos afirmar que su atención es más dispersa.



Figura 5: Mapas de calor de la pantalla 30 para Controles y Pacientes

En la Figura 5 se puede ver la distribución para controles explicada anteriormente. En los pacientes, las fijaciones en las imágenes no son uniformes. Además, se observa una densidad de fijaciones importantes en zonas no consideradas de interés.

4.3. Sistema de Puntuación.

Con el análisis de los datos se propone un sistema de puntuación que, a partir de éste, pueda valorar el estado del sujeto que realiza la tarea. Se tienen en cuenta aspectos como los aciertos y los errores, el tiempo de respuesta, el aprendizaje y las fijaciones. Con el sistema actual, una ejecución perfecta, con respuesta rápida, sin errores y cumpliendo las condiciones de las fijaciones en todas las pantallas, tendría una puntuación de 190 puntos. El siguiente paso natural es comparar los datos con los test realizados en la práctica clínica para asegurar que existe una relación entre los mismos, así como ajustar este primer sistema de puntuación para conseguir el mejor sistema diagnóstico posible.

CONTROL		PACIENTES		
Sujeto	Puntuación	Sujeto	Puntuación	WISC-V
4001	141	3001	98	4
4007	146	3002	106	7
4010	128	3003	102	9
4013	133	3004	103	7
4016	125			

Tabla 3: Tabla de tiempo total medio en las zonas de interés en pacientes

A la vista de los resultados de la Tabla 3, se puede ver que, aunque existe relación entre la prueba clínica y el resultado del sistema desarrollado, la correspondencia no es total. Se debe refinar el sistema para que tenga un resultado con una relación perfecta con la prueba WISC-V. También es necesario realizar una validación del

propio sistema para asegurar su funcionamiento como herramienta diagnóstica.

5. Conclusiones y trabajos futuros

Tras la realización de este trabajo, se ha conseguido aportar información útil para la mejora del proceso diagnóstico de déficits de atención, mediante el análisis de los datos resultantes de la ejecución de una tarea de evaluación de déficits cognitivos y proponiendo un sistema de puntuación que evalúa el nivel de afectación de la atención. Sin embargo, ya se está trabajando en ampliar la muestra de sujetos, de manera que la muestra sea menos diversa y podamos así obtener unos resultados más precisos. En esta línea, se está trabajando en mejorar el sistema de puntuación, así como añadir diferentes funcionalidades a la tarea que dote de mayor capacidad diagnóstica al entorno.

Referencias

- [1] Federación Española de Daño Cerebral, «Daño Cerebral Adquirido.» 5 Septiembre 2013. [En línea]. Available: <http://fedace.org/dano-cerebral-adquirido-3/>.
- [2] Traumatic Brain Injury.com, LLC, "Traumatic Brain Injury," 2006. [Online]. Available: <http://www.traumaticbraininjury.com/>. [Accessed Junio 2016].
- [3] Federación Española de Daño Cerebral., «Problemas derivados del DCA (I): cognición y comunicación.» 13 Septiembre 2013. [En línea]. Available: <http://fedace.org/problemas-derivados-del-dca-i-cognicion-y-comunicacion/>.
- [4] M. Ríos Lago, J. Muñoz Céspedes y N. Paúl Lapedriza, «Alteraciones de la atención tras daño cerebral traumático: evaluación y rehabilitación.» Revista de neurología, pp. 291-297, Enero 2007.
- [5] L. T. ADACEN, «La Importancia De Un Adecuado Diagnostico Y Valoración En El Dca.» ADACEN, 19 Mayo 2014. [En línea]. Available: <http://www.adacen.org/blog/index.php/la-importancia-de-un-ade-cuado-diagnostico-y-valoracion-en-el-dca/>. [Último acceso: Junio 2016].
- [6] Neuropsic, «Evaluación Neuropsicológica.» Neuropsic, 2016. [En línea]. Available: <http://www.neuropsicologia.com.ar/evaluacion-neuropsicologica/>. [Último acceso: Junio 2016].
- [7] Pearson Clinical, «WISC-V, Escala de inteligencia de Wechsler para niños-V» 2016. [En línea]. Available: <http://www.pearsonclinical.es/producto/126/wisc-v-escala-de-inteligencia-de-wechsler-para-ninos-v>. [Último acceso: Septiembre 2016].
- [8] AINMER Y Grupo Ael, «AINMER Investigación.» 2016. [En línea]. Available: http://www.ainmer.es/_files/archivos/bb3d9fef-6831-4895-88b8-cb364a7092b5.pdf. [Último acceso: Junio 2016].
- [9] I. Gila, A. Villanueva y R. Cabeza, «Fisiopatología y técnicas de registro de los movimientos oculares.» de Anales del Sistema Sanitario de Navarra [online], vol. 32, Pamplona, 2009, pp. 9-26.
- [10] A. Crespo León, R. Cabestrero Alonso y P. Quirós Expósito, Metodología de Investigación Básica: Parámetros Oculares Y Procesamiento De La Información, Editorial UNED, 2008.
- [11] Tobii tech, «Tobii EyeX Controller.» 2016. [En línea]. Available: <http://www.tobii.com/xperience/products/#TobiiEyeXSoftware>. [Último acceso: Octubre 2016].
- [12] J. Solana et al, «Improving brain injury rehabilitation by personalizad telerehabilitation services: guttmann neuropersonal trainer.» IEEE journal of biomedical and health informatics, vol. 1, n° 19, pp. 124-131, 2015.

Clasificación de trastornos del sueño a partir del análisis de señales cerebrales mediante *wavelets* y técnicas estadísticas de Análisis Multivariante

A. González Cebrián¹, J. M. Prats Montalbán¹, A. Ferrer Riquelme¹, J. Picó i Marco²

¹ Grupo de Ingeniería Estadística Multivariante (GIEM), Universidad Politécnica de Valencia (UPV), Valencia, España, eragsar@etsii.upv.es jopraron@eio.upv.es aferrer@eio.upv.es

² Instituto de Automática e Informática Industrial (ai2), Universidad Politécnica de Valencia (UPV), Valencia, España, jpico@ai2.upv.es

Resumen

El objetivo de este trabajo es clasificar a un conjunto de pacientes con distintos trastornos del sueño, analizando el electroencefalograma (EEG) registrado en polisomnografías (PSGs). Mediante la Transformada Wavelet Discreta (DTW) las epoch en las que se dividieron los EEG, fueron descompuestas en series de coeficientes referentes a distintas bandas de frecuencias. Un conjunto de parámetros representativos de estos coeficientes, se empleó para realizar un Análisis de Componentes Principales (PCA), y así poder extraer patrones latentes característicos de cada individuo. Las variables latentes del PCA, junto con información relativa a cada sujeto, se agruparon en una matriz de observaciones que fue introducida en algoritmos K-Vecinos más Próximos (KNN) y Análisis Discriminante basado en Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-DA), con la finalidad de asignar a cada paciente uno de los posibles trastornos del sueño.

1. Introducción

El sueño es un estado cíclico cuyas alteraciones afectan aproximadamente a uno de cada tres españoles, al 50% de la población mundial y solo en Estados Unidos hay 40 millones de pacientes crónicos y 20 millones de afectados cada año [1,2]. Su clasificación las distingue en parasomnias o disomnias según si el sujeto en cuestión posee comportamientos atípicos durante el sueño, o si el problema reside en la calidad o cantidad de las horas dormidas, respectivamente. Las alteraciones del hábito de sueño han sido relacionadas con problemas durante el desarrollo infantil, así como con patologías cardiovasculares o psíquicas de carácter crónico.

Para el diagnóstico de un sujeto suele realizarse una polisomnografía, debido a que cuenta con información referente a varias señales biológicas. Una de ellas es el electroencefalograma (EEG), en el que se registra la actividad cerebral, íntimamente ligada a la evolución del sueño de un sujeto. Esta señal es captada siguiendo el sistema 10-20 impulsado por la Federación Internacional de Electroencefalografía, en el que se especifica la posición de 21 electrodos alrededor de la superficie encefálica, logrando una distribución equidistante de las distintas referencias anatómicas, como se muestra en la **figura 1**.

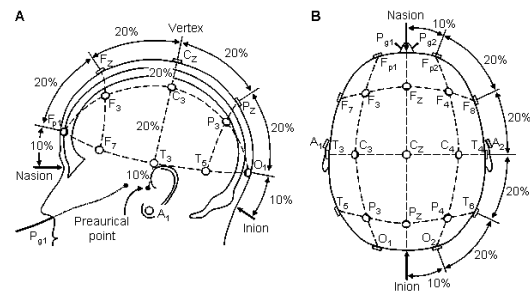


Figura 1. Sistema Internacional 10-20 desde vista lateral izquierda (A) y superior (B).

Una vez la señal ya ha sido registrada, varios parámetros pueden resumir cuantitativamente su comportamiento, siendo los más básicos su amplitud y frecuencia. El EEG es una señal cuyos rangos fisiológicos oscilan entre los 10 y 100 μV de amplitud cuando se capta con electrodos de superficie, y los 0.1 y 30 Hz de frecuencia [3]. Dada la alta variabilidad de la amplitud por factores como interferencias o atenuaciones de la señal, la frecuencia es un parámetro más robusto en base al que determinar la actividad cerebral. En general se distinguen cinco ondas asociadas cada una de ellas a un ancho de banda, tal como se recoge en la **tabla 1**.

Onda	Ancho de banda	Función/estado del sueño asociado
Delta (δ)	0.5 – 2 Hz	Sueño profundo (fases 3 y 4), sobretodo en región frontal
Theta (θ)	3 – 7 Hz	Infantes, adultos con estrés emocional, frecuencia más abundante durante el sueño
Alfa (α)	8 – 13 Hz	Relajación y fase 1 del sueño, producida en la región occipital.
Beta (β)	14 – 30 Hz	Activación de zonas de la corteza, fase REM
Gamma (γ)	> 30 Hz	Procesamiento activo

Tabla 1. Clasificación de señal EEG en base a la frecuencia en ondas α , β , θ , δ o γ .

A cada una de las *epoch* (tramos de 30 segundos) en las que se segmenta el EEG, se le asocia cierta fase del sueño en base a la frecuencia que mayor contribución posee sobre la energía de la señal en ese tramo. La clasificación actual sigue la norma de la *American Academy of Sleep Medicine (AASM)*, que distingue cuatro fases de las cuales solo en una se producen movimientos oculares rápidos, llamada fase REM (*Rapid Eye Movement*), siendo las otras tres fases conocidas como N1, N2, N3 [2].

Teniendo en cuenta la duración aproximada de 7 horas de las PSG, así como la incapacidad del ojo humano de captar cambios sutiles en las señales, es fácil comprender que el análisis visual de estos registros conlleva no solo una alta carga de trabajo, sino también resultados variables y poco reproducibles por su carácter manual y cualitativo. Un diagnóstico correcto es necesario para la gestión exitosa de estas patologías, y pese al esfuerzo de organizaciones como la *AASM* en la divulgación de protocolos y metodologías estándar, sigue faltando un procedimiento oficial. Así, se apostaría por la igualdad en la calidad de los exámenes independientemente del centro donde se realizase. Por otro lado, el desarrollo de algoritmos que interpretasen la PSG potenciaría la teleasistencia de los pacientes [4] evitando su ingreso en el hospital, además de permitir análisis más exhaustivos que no solo mejorasen el diagnóstico, sino que aportasen nueva información hasta ahora desconocida.

El objetivo del presente trabajo es el análisis de señales cerebrales registradas en EEG, para su caracterización y establecimiento de modelos de compresión y clasificación. Mediante la Transformada *Wavelet* Discreta (DWT), el cálculo de parámetros representativos y el Análisis de Componentes Principales (PCA), se pretende reducir la dimensionalidad del conjunto de datos inicial sin perder la información más decisiva en base a la cual clasificar. Ésta ha sido empleada para el análisis y estudio de las diversas patologías, asignando una de entre las posibles a cada sujeto mediante *K-Vecinos Más Próximos (K-Nearest Neighbors, KNN)* y Análisis Discriminante basado en Mínimos Cuadrados Parciales (*Partial Least Squared – Discriminant Analysis, PLS-DA*).

2. Materiales y métodos

Las PSGs estudiadas con los EEG forman parte de la base de datos de Patrones Cíclicos Alternantes (*Cyclic Alternating Patterns*) [5] disponible en *Phisionet.org*. Se ha optado por este repositorio porque, además de permitir libre acceso a los registros, éstos están en formatos de archivo compatibles con Matlab. La base de datos contiene 108 EEGs pertenecientes a 16 sujetos sanos y 92 con diversas patologías del sueño. Dichas patologías son: bruxismo, epilepsia nocturna del lóbulo frontal, narcolepsia, movimientos periódicos de piernas, trastorno de la fase REM y trastornos respiratorios durante el sueño (apneas). El formato de los registros sigue el estándar europeo .edf (*European Data Format*).

2.1. Cribado y organización de los datos.

Tras descargar y visualizar la estructura de datos, se ha comprobado que no todas las filas de cada registro hacían referencia a los mismos electrodos, además de datos

faltantes y registros en cuyas cabeceras aparecía una frecuencia de muestreo distinta a los 512 Hz.



Figura 2. Descripción del estado del conjunto de registros, con 4 filas correspondientes a cada electrodo, tantas columnas como muestras temporales y matrices como pacientes. Nótese la distinta dimensión temporal de cada paciente, debido al distinto tiempo de sueño.

El resultado tras el cribado, representado en la **figura 2**, fue de un conjunto de 80 pacientes con 4 filas por registro, correspondientes a los 4 electrodos comunes en todos los pacientes (Fp2-Fp4, F4-C4, C4-P4 y P4-O2). El número de columnas representa la dimensión temporal, variando entre pacientes puesto que los sujetos dormían un número de horas distinto. Dada la frecuencia de muestreo de 512 Hz y la duración entre 6 y 7 horas de la PSG, para cada electrodo se alcanza el orden de decenas de millón de columnas.

2.2. Transformada Wavelet Discreta.

La Transformada Wavelet (TW) [6] es un operador matemático que pasa la información contenida en el dominio temporal, al espacio tiempo-frecuencia. Permite no solo conocer las frecuencias que componen la señal, sino también cuándo se producen cambios en cada una de esas componentes frecuenciales. Su versión discreta (DWT) [7] ha sido empleada con buenos resultados para algoritmos de clasificación, permitiendo además resumir la información del EEG [8].

La DWT descompone una señal en N niveles, cada uno con dos series de coeficientes relativas a variación de componentes de la señal en altas frecuencias (H, también conocidos como información de detalle) y en bajas (L, también conocidos como suavizado de la señal). Este último es diezmado progresivamente cada dos muestras. Así, la longitud de los vectores de coeficientes de cada nivel, disminuye a razón de $\frac{1}{2}$. Conociendo el valor N, se puede llegar a la longitud inicial de la señal, 2^N . En este caso, de entre las posibles familias se ha escogido la *wavelet* Daubechies 4 (db4) [9] con N = 10 niveles de descomposición. Esta *wavelet* ya ha sido empleada en extracción de características del EEG y en algoritmos de clasificación, obteniéndose buenos resultados [10].

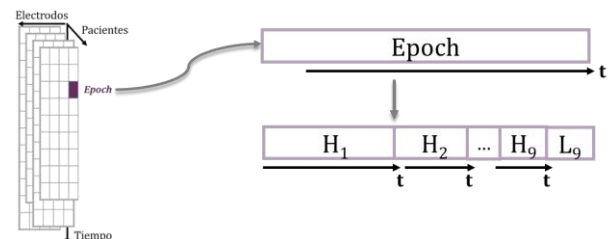


Figura 3. Representación esquemática de la descomposición mediante la DWT, de cada epoch en 10 vectores de coeficientes referentes a información de alta y baja frecuencia de la señal EEG.

Imitando la metodología clínica, se ha segmentado cada registro en *epochs*, facilitando la transformación al espacio tiempo-frecuencia mediante la DWT como se ilustra en la **figura 3**.

2.3. Extracción de características.

Una vez se descompone la señal empleando la DWT, los coeficientes se almacenan y de cada una de las series se extraen parámetros representativos de la distribución de los coeficientes. Estos parámetros han sido: mediana, desviación típica, coeficiente de asimetría, mínimo, máximo, energía y entropía. Teniendo en cuenta que los primeros niveles de descomposición cuentan con 15360 muestras, cabe destacar el nivel de compresión al sintetizar esta información en 7 parámetros.

2.4. Compresión de variables mediante PCA.

El Análisis de Componentes Principales (*Principal Component Analysis, PCA*) [11] es una técnica estadística multivariante que permite estudiar la relación entre variables de un conjunto de datos y cómo éstas influyen en la variabilidad entre los individuos. Es un método útil para comprimir información mediante el criterio de maximización de la varianza en la estructura de datos **X**.

PCA realiza una descomposición bilineal de la matriz de datos original en vectores de pesos (*loadings*) y de puntuaciones (*scores*). Cada Componente Principal (*Principal Component, PC*) representa una fuente de variabilidad de los datos, siendo combinación lineal de las variables iniciales e imponiéndose que las Componentes Principales sean ortogonales entre sí. En este caso se ha seleccionado un número de 2 Componentes Principales.

	Parámetros T ₁	Parámetros T ₂	P ₁	P ₂	Var.Ex	Var.No Ex.	TE S
P							
a							
c							
i							
e							
n							
t							
e							
s							

Figura 4. Matriz final de 78 x 579, con los individuos representados por un único vector fila de iguales dimensiones.

La matriz de observaciones final ilustrada en la **figura 4**, cuenta con tantas filas como individuos y columnas como variables, cuenta con un vector fila representando cada individuo formado por: vectores de *scores* y *loadings* de las dos primeras PCs, el porcentaje de variabilidad explicado y no explicado por estas dos variables latentes, género (G), edad (E), y tiempo (T) que figuran en el registro de cada paciente.

2.5. Clasificación de individuos en pacientes de una determinada patología mediante KNN y PLS-DA.

Los modelos de clasificación predicen la clase a la que un sujeto pertenece, devolviendo una matriz respuesta **Y** de unos y ceros dependiendo de si un individuo pertenece a cierta clase (1) o no (0), respectivamente. Esta matriz tiene tantas filas como individuos y columnas como clases

posibles, y variará según el método empleado para clasificar.

El método KNN [12] pretende minimizar la varianza intraclase maximizando la interclase, asignando a cada individuo la categoría respecto a la cual posee una menor distancia. Los parámetros que se han escogido para la ejecución del algoritmo son: la distancia Coseno, búsqueda exhaustiva (*exhaustive search*) como avance del algoritmo para la clasificación, y $k = 4$, por lo que devolverá los 4 vecinos más cercanos al individuo a clasificar.

Partial Least Squared Regresion (PLS) [13] es una herramienta empleada para el estudio de las fuentes de variabilidad relacionadas en la matriz de observaciones **X** y la matriz respuesta **Y**. Así pues, devuelve nuevas variables que maximicen la covarianza entre la matriz de observaciones y la respuesta. Una ventaja de PLS-DA [14] es poder contar con la información de la clase de los individuos en la matriz **Y**. En este caso puede tener seis columnas referentes a las seis patologías consideradas, o dos columnas de las cuales una se refiere a los sujetos con cierta patología y otra al resto.

3. Resultados.

Debido a la falta de individuos, en este caso se ha realizado únicamente la fase de entrenamiento con los modelos de clasificación, sin poder llegar a la validación con datos no empleados en la generación del modelo. El porcentaje de aciertos obtenido con KNN es del 66.66% considerando 4 vecinos (**tabla 2**).

Asign. Real	Ins.	Sano	Narc.	Epil.	M.R. Pi	T. F. R
Ins.	1	0	0	0	0	0
Sano	0	1	0	0	1	0
Narc.	0	0	1	0	0	1
Epil.	0	0	0	1	0	0
M.R. Pi	0	0	0	0	1	0
T.F.R	1	0	0	0	0	1

Tabla 2. Resultado de KNN para 30 individuos (5/clase) con $k=4$ vecinos, distancia Coseno y avance Exhaustive Search.

Pese a que la varianza interclase no haya sido suficiente como para definir claramente una frontera entre las distintas patologías, sí se reconocen ciertas agrupaciones de elementos puesto que hay sujetos correctamente clasificados. Además, las confusiones en la clasificación de elementos de la clase Narcolepsia (Narc.) y Trastorno de la Fase REM (T.F.R), se corresponden con la sospecha clínica de que existe relación entre pérdida de atonía muscular en la fase REM y el posterior desarrollo de trastornos más severos como la Narcolepsia. No obstante, serían necesarios más estudios con mayor muestra poblacional para poder arrojar luz sobre este asunto o similares.

Para el modelo PLS que considera las seis patologías el porcentaje de aciertos es del 50%, mientras que en el modelo PLS que solo considera diferencias entre patología y resto, dicho porcentaje disminuye hasta el 39.74% (tabla 3).

<i>PLS-DA 6 clases vs. 6 clases (30 individuos)</i>						
<i>Clase</i>	<i>Ins.</i>	<i>Sano</i>	<i>Narc.</i>	<i>Epil.</i>	<i>M.r. Pi.</i>	<i>T.F. R</i>
<i>Aciertos clase</i>	28	27	28	30	25	25
<i>Falsos Negativos</i>	1/5	3/5	2/5	0/5	4/5	5/5
<i>Falsos Positivos</i>	1	0	0	0	1	0
<i>PLS-DA 1 clase vs. resto (78 individuos)</i>						
<i>Clase</i>	<i>Ins.</i>	<i>Sano</i>	<i>Narc.</i>	<i>Epil.</i>	<i>M.r. Pi.</i>	<i>T.F. R</i>
<i>Aciertos clase</i>	74	74	75	64	71	73
<i>Falsos Negativos</i>	4/7	4/6	3/5	10/29	7/9	3/22
<i>Falsos Positivos</i>	0	0	0	4	0	2

Tabla 3. Resultado de PLS-DA para 30 individuos con 5/clase (arriba), y resultados de de PLS-DA para 78 individuos con 7 de Insomnio, 6 Sanos, 5 con Narcolepsia, 28 con Epilepsia Nocturna del Lóbulo frontal, 9 con Movimientos Repetitivos de Piernas y 22 con Trastorno de la Fase del sueño REM.

Los mejores resultados con el primer PLS-DA son los obtenidos para Insomnio y Epilepsia Nocturna, siendo los peores clasificados el Movimiento Repetitivo de Piernas y el Trastorno en la conducta de la Fase REM. Sin embargo, en el segundo PLS-DA es el Trastorno en la conducta de la Fase REM el mejor discriminado, mientras que Sanos, Narcolepsia y Movimiento Repetitivo de piernas, empeoran considerablemente su resultado.

En ambos enfoques del PLS-DA se han seleccionado aquellas características más relevantes para la discriminación de individuos para así mejorar el valor de la bondad de ajuste del modelo PLS (Q^2). Para ello se han seleccionado las variables del Gráfico de Importancia de Variables (*Variable Importance Plot, VIP*) con valor mayor o igual que 1. Así, el modelo PLS con 30 individuos y 3 componentes, tiene bondades de ajuste y predicción de $R^2=0.3837$ y $Q^2=0.2569$ respectivamente. Sin embargo, los modelos PLS construidos para cada clase vs. el resto varían en el número de componentes y en las bondades de ajuste y predicción en cada caso ($R^2=0.6$ y $Q^2=0.5$ Insomnio; $R^2=0.5$ y $Q^2=0.2$ Sanos; $R^2=0.5$ y $Q^2=0.2$ Narcolepsia; $R^2=0.5$ y $Q^2=0.4$ Epilepsia Nocturna; $R^2=0.3$ y $Q^2=0.2$ en Movimientos Periódicos de Piernas y $R^2=0.7$ y $Q^2=0.5$ en Trastornos en la conducta de la Fase REM).

Tanto KNN como el primer PLS-DA, hacen una discriminación considerable para la Epilepsia Nocturna, aunque los resultados empeoran con el PLS de esa clase frente al resto.

4. Conclusiones

En general, los resultados sugieren que entre las características extraídas hay información relevante a la hora de clasificar, lo cual implica posibilidades de mejora en pasos del procedimiento relacionados con la extracción de las características que reflejen la información del EEG. La incertidumbre de algunos pasos del proceso, como qué características extraer o el tipo de preprocesado previo a la compresión con PCA y a la clasificación, pueden estar generando información no útil para establecer una clasificación. Otros parámetros como los electrodos escogidos, niveles de descomposición de la DWT o la familia de *wavelets* escogida, pueden haber introducido información que no ayudase a clasificar, pudiendo explicar la necesidad de eliminar variables con VIP menor que 1.

No obstante, todos estos parámetros pueden ser modificados. Además, la calidad de los datos de partida ha marcado el desarrollo del trabajo en todo momento, por lo que queda por determinar todavía la eficacia de este tipo de técnicas con datos procedentes de otras fuentes y con variaciones en algunos parámetros del proceso.

5. Referencias

- [1] Sociedad Española del Sueño. Comunicado DMS, 2014.
- [2] American Sleep Association. American Sleep Association, ASA, 2016.
- [3] Tong S, Thankor NV. Engineering in Medicine & Biology-Quantitative EEG Analysis Methods and Clinical Applications. Ed. Artech House: Boston/London, 2009.
- [4] Singh J, Badr MS, Diebert W, Epstein L, Hwang D, Karres V. American Academy of Sleep Medicine (AASM) Position Paper for the Use of Telemedicine for the Diagnosis and Treatment of Sleep Disorders. *Journal of Clinical Sleep Medicine*. 11: 1187-1198, 2015. [\[1\]](#) [\[2\]](#)
- [5] Terzano MG, Parrino L, Sherieri A, Chervin R, Chokroverty S, Guilleminault C. Atlas, rules, and recording techniques for the scoring of cyclic alternating patterns (CAP) in human sleep. *Sleep Medicine, Elsevier Science*. 2: 537-553, 2001.
- [6] Faust O, Acharya UR, Adeli H, Adeli A. Wavelet-based EEG processing for computer-aided seizure detection and epilepsy diagnosis. *Seizure – European Journal of Epilepsy*. 26: 56-64, 2015.
- [7] Vidakoyik B. Statistical Modeling by Wavelets. Ed. John Wiley & Sons, Inc. New York, 1999.
- [8] Daubechies I. Ten Lectures on Wavelets. *CBMS-NSF Regional Conference Series in Applied Mathematics*, vol. 61, SIAM, Philadelphia, Pennsylvania 1992.
- [9] Jackson JE, A User's guide to Principal Components. Ed. Wiley, New York, 1991.
- [10] Altman, N.S. An introduction to kernel and nearest-neighbor nonparametric regression. *The American Statistician*, 46(3): 175-185, 1992.
- [11] Geladi P, Kowalski BR. Partial Least Squares Regression: A Tutorial. *Analytica Chimica Acta*, 185, 1-17, 1986.
- [12] Sjöström M, Wold S, Söderström B. PLS Discriminant Plots. *Proceedings of PARC in Practice. Elsevier Science Publishers B.V, Amsterdam, North-Holland* 1986.

Aplicación de algoritmos genéticos en el control de la hipertensión arterial

V. Vives Boix¹, D. Ruiz Fernández¹, A. Soriano Payá¹, D. Marcos Jorquera¹, V. Gilart Iglesias¹, A. de Ramón Fernández¹, M. Lillo-Crespo²

¹ Departamento de Tecnología Informática y Computación, Universidad de Alicante, San Vicente del Raspeig, España, {vvives, druiz, soriano, dmarcos, vgilart, aderamon}@dtic.ua.es

² Departamento de Enfermería, Universidad de Alicante, San Vicente del Raspeig, España, manuel.lillo@ua.es

Resumen

La hipertensión es una enfermedad crónica y una causa evitable en infartos de miocardio y diferentes enfermedades cardíacas. Además, una enfermedad crónica conlleva a una reducción en la calidad de vida que puede ser mejorada haciendo uso de las tecnologías de la información y las comunicaciones. Los sistemas de ayuda a la decisión clínica tratan de mejorar la calidad de vida de un paciente crónico proporcionándole la posibilidad de auto-gestionar y tomar decisiones en todo lo relativo a su estado de salud. Sin embargo, la interacción del paciente con las nuevas tecnologías supone a menudo una dificultad. En este trabajo se propone un algoritmo genético adaptativo para personalizar de forma automática el control de la hipertensión. Para ello, se utilizan los datos de la tensión arterial del paciente en la fase del reemplazamiento generacional en computación evolutiva.

1. Introducción

La hipertensión se define por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una enfermedad crónica común en la que los vasos sanguíneos mantienen una presión elevada. Uno de cada cinco adultos en el mundo tiene hipertensión, que es además la causa evitable más importante en infartos y en multitud de enfermedades cardíacas. La presión arterial normal en un adulto se establece en 120 mm Hg cuando el corazón late (sistólica) y en 80 mm Hg cuando el corazón se relaja (diastólica). Cuando la sistólica es igual o superior a 140 mm Hg y/o la diastólica es igual o superior a 90 mm Hg, se considera que una persona tiene hipertensión. Para las personas que han sido diagnosticadas con esta enfermedad, los cambios en su estilo de vida como dejar de fumar, comer de forma saludable, practicar ejercicio de forma regular, reducir la ingesta de sal y evitar el consumo de alcohol, suelen ser suficientes para mantener su presión arterial en valores normales [1].

Las enfermedades crónicas conllevan a una reducción de la calidad de vida que puede ser mejorada mediante enfoques basados en la auto-gestión del paciente [2]. El término autogestión define la participación activa del paciente crónico en su tratamiento, cuyo objetivo es minimizar el impacto de una condición particular en su estado de salud [3], e incluye actividades de autocuidado realizadas con el objetivo de limitar la enfermedad. Además, el apoyo a la autogestión incluye un enfoque colaborativo entre el médico y el paciente, un proceso

mediante el cual las personas obtienen un mayor control sobre las decisiones y las acciones que afectan en todo lo relativo a su salud [4].

En los últimos años han ido apareciendo distintas áreas de investigación en las tecnologías de la información y las comunicaciones (TIC) referentes al apoyo de pacientes con enfermedades crónicas. Un ejemplo son los sistemas de ayuda a la decisión, herramientas muy potentes que facilitan el empoderamiento de los pacientes. Sin embargo, estos sistemas de apoyo se pueden mejorar mediante una personalización automática utilizando el comportamiento y las decisiones que toma el paciente diariamente.

La computación evolutiva y los algoritmos genéticos son actualmente una solución adecuada en la autogestión en sistemas de recomendación y sistemas de apoyo a la decisión. Sin embargo, la auto-gestión del paciente se contempla actualmente con soluciones como la monitorización, la retroalimentación y/o incluso la gamificación, opciones que requieren una interacción manual del usuario y que resultan en gran medida un problema en la adherencia del paciente al tratamiento [5]. En este trabajo se propone un algoritmo genético adaptativo que permite obtener una solución de forma automática para pacientes hipertensos mediante la utilización de datos de tensión y la optimización de una función obtenida al codificar esa información.

2. Estado del arte

Los sistemas de apoyo a la decisión personalizados son un campo de estudio actual en la atención sanitaria [6]. Esto es debido a que, durante los últimos años, se han propuesto varios sistemas de autogestión que han demostrado una mejora en el estilo de vida en pacientes con enfermedades crónicas [7]. En [8] se propone un sistema basado en la nube que incorpora prescripciones médicas electrónicas (CPOE) y que logra una mejora en el control de la presión arterial en pacientes hipertensos. Las experiencias en el apoyo a la autogestión suelen ser positivas; sin embargo, la recepción y la gestión de la información no son suficientes para los usuarios, que solicitan una mayor implicación en la toma de decisiones relativas a su salud [9].

En [10] se utiliza una infraestructura basada en las TIC que dispone de varios servicios para pacientes diagnosticados con diabetes. Sin embargo, la introducción manual de los datos es una tarea difícil en la mayoría de los casos, sobre todo en aquellos pacientes que no tienen demasiada afinidad con las nuevas tecnologías. En [11] se estudia y analiza la experiencia de los pacientes con un sistema interactivo móvil, donde el principal inconveniente es que los usuarios requieren una preparación inicial y solo unos pocos pacientes han logrado adherirse correctamente al tratamiento. Por este motivo, es esencial que la adquisición y el procesamiento de datos se realice automáticamente. En [12] se utiliza una pulsera inteligente que incluye un seguimiento de actividad, mientras que en la plataforma de seguimiento propuesta en [13] se incluye también un tensiómetro y una báscula digital.

La personalización en computación evolutiva también se utiliza en sistemas de recomendación colaborativos; sin embargo, estas soluciones consisten en realizar distintas recomendaciones en base a comportamientos similares de otros usuarios. Un ejemplo es el trabajo de [14], donde se aplican algoritmos genéticos para optimizar los pesos de distintas características en un filtro colaborativo, utilizado para medir la similitud entre perfiles de usuario. En [15] se realiza una revisión de trabajos relacionados en diferentes tipos de sistemas de recomendación.

En este trabajo se utiliza un algoritmo genético adaptativo que utiliza la información obtenida mediante un tensiómetro digital en el reemplazamiento generacional. De esta forma, en cada paso se obtiene el rango óptimo para lograr el objetivo marcado por el médico y una serie de recomendaciones que se basan en los valores de presión arterial del paciente.

3. Diseño del algoritmo genético

3.1. Datos

En un algoritmo genético, las soluciones potenciales a un problema se representan utilizando cadenas binarias de una determinada longitud, definida por el número de variables existentes en la solución y el número de bits utilizados para codificarlas. Utilizando el vocabulario de un sistema biológico, el término utilizado para describir estas cadenas binarias es cromosoma. Un cromosoma se compone de valores binarios denominados genes. De esta manera, un cromosoma c^t en una generación t puede ser representado de la forma $c^t = (b_1^t \dots b_n^t)$, donde $b_i^t \in \{0,1\}$, $i = 1, \dots, n$ ($n =$ número de bits). La elección de cómo representar la solución de un problema puede llegar a ser muy importante en un algoritmo genético y puede limitar directamente la forma en la que el sistema interpreta el entorno [16].

Los datos de los pacientes se han representado utilizando dos parámetros, la presión arterial sistólica y la diastólica, cuyo objetivo es estar en un rango de presión arterial normal. De esta forma, un cromosoma se representa por los valores de presión arterial del paciente tomados durante la semana. Los valores de la tensión sistólica y

diastólica se codifican de la forma descrita en las Tablas 1 y 2.

Condición	Sistólica (mm Hg)	sis_1	sis_2
Hipertensión	≥ 140	0	0
Prehipertensión	< 140 y ≥ 120	0	1
Presión normal	< 120 y ≥ 90	1	0
Hipotensión	< 90	1	1

Tabla 1. Rangos de presión arterial sistólica y codificación

Condición	Diastólica (mm Hg)	dia_1	dia_2
Hipertensión	≥ 90	0	0
Prehipertensión	< 90 y ≥ 80	0	1
Presión normal	< 80 y ≥ 60	1	0
Hipotensión	< 60	1	1

Tabla 2. Rangos de presión arterial diastólica y codificación

Por tanto, un cromosoma c^t en una generación t se puede representar de la siguiente manera:

$$c^t = (b_1^t b_2^t \dots b_7^t),$$

donde $b_i^t = (r_{i1}^t r_{i2}^t r_{i3}^t)$, siendo r_{ij}^t las tres tomas de presión arterial ($j = 1, 2, 3$) diarias (mañana, mediodía y noche respectivamente), cada una de ellas definida como:

$$r_{ij}^t = (sis_{ij1}^t sis_{ij2}^t dia_{ij1}^t dia_{ij2}^t),$$

donde sis_{ij1}^t , sis_{ij2}^t , dia_{ij1}^t y dia_{ij2}^t son los valores codificados de la presión arterial sistólica y diastólica definidos en las Tablas 1 y 2. Por tanto, cada cromosoma se compone de un total de 84 genes o valores binarios.

3.2. Función de evaluación

El mecanismo habitual para medir la adecuación de una solución es evaluar su fenotipo, es decir, el cromosoma c^t decodificado a través de la función objetivo f del problema a resolver. De esta manera, la función de evaluación $eval$ corresponde a la función objetivo f del problema, es decir, dado un cromosoma c^t y su fenotipo x^t , su adecuación se puede obtener de la forma:

$$f^t = eval(c^t) = f(x^t)$$

El término individuo es a menudo utilizado para referirse a la información que relaciona un fenotipo y su adecuación en el entorno de la solución. De esta manera, un individuo X^t en una generación t se representa de la forma:

$$X^t = (c^t, x^t, f^t),$$

y una población formada por m individuos, donde m es el tamaño de la población dado por un parámetro de entrada, se representa en una generación t de la forma:

$$P(t) = \{X_1^t, \dots, X_m^t\}$$

En este trabajo se contempla la posibilidad de modificar la presión arterial objetivo con el fin de poder incluir en el proceso objetivos a corto plazo para el paciente. De esta manera, la función f^t puede reevaluar un cromosoma objetivo tras una generación t dependiendo de la actividad del paciente, afectando así directamente a la siguiente generación. Los objetivos a corto plazo son parámetros de entrada y son establecidos por el médico siguiendo su propio criterio profesional en función de la evolución, el comportamiento y el estilo de vida del paciente. Estos objetivos se definen en valores de presión arterial.

La función de evaluación utilizada compara un cromosoma c^t con un cromosoma objetivo dado por el fenotipo del cromosoma en función de la presión arterial introducida por el médico. La adecuación en c^t se establece realizando una comparación en la similitud de ambos cromosomas, donde el resultado representa una mejor adecuación al entorno cuando más alto es su valor.

3.3. Operadores genéticos

La población inicial $P(t)$ se genera de forma aleatoria, y una vez se han evaluado todas las soluciones de la población en una generación t , ésta evoluciona en una nueva generación t' . La población en la siguiente generación se transforma utilizando un esquema operacional básico en el que se aplican las siguientes reglas de transición probabilísticas: selección y muestreo, operadores genéticos (de cruce y de mutación) y reemplazamiento generacional [16].

El esquema de selección asigna a cada individuo en una generación t un número esperado de descendientes $N^t = m \times p^t$, donde p^t es la probabilidad de un individuo X^t de ser seleccionado y m es el tamaño de la población. Además, el algoritmo de muestreo asociado al esquema de selección obtiene también el número de individuos como padres en función de N^t . En este trabajo el esquema de selección utilizado es el de selección por ranking, donde cada individuo se ordena en una lista en función de su adecuación (de mejor a peor) y la selección se realiza en función de su posición en la lista ordenada.

Para cada operador de cruce, cada gen de un hijo se crea con los correspondientes genes de los padres utilizando una máscara de cruce generada aleatoriamente. Los genes en el primer hijo se toman del primer padre si el valor de la máscara es 1 y tomados del segundo padre si el valor es 0. El segundo hijo se crea utilizando el método inverso. Para el operador de mutación se utiliza también una máscara aleatoria que define los genes a ser mutados.

Por último, el reemplazamiento generacional se realiza mediante la evaluación de los cromosomas seleccionados, cruzados y mutados. Los nuevos individuos de la siguiente población se seleccionan de la población actual y sus descendientes, de forma que se evitan mínimos locales en la obtención de una solución al problema definido.

El algoritmo propuesto incluye la personalización del paciente en el reemplazamiento generacional, es decir, los cromosomas se generan con los valores tomados de

presión arterial y se incluyen en el reemplazamiento generacional, influyendo así en la posterior selección por ranking y en los operadores genéticos de la siguiente generación t' . De esta forma, cada salto generacional puede evaluarse utilizando los valores de los cromosomas del paciente y el mejor cromosoma obtenido en cada iteración, pudiendo realizar posteriormente una serie de recomendaciones para reducir su tensión arterial. Así, mediante la utilización de un algoritmo genético, se logra una solución automática para un sistema de ayuda a la decisión que permite al paciente realizar un control de su hipertensión arterial.

4. Resultados

El algoritmo genético adaptativo propuesto se ha probado simulando el comportamiento de un paciente y asumiendo una adherencia al tratamiento y a las recomendaciones realizadas. El punto de inicio de la presión arterial del paciente se toma en un rango de hipertensión (150mm Hg y 110 mm Hg). Los resultados se han representado con las iteraciones o semanas en el eje X y la adecuación del mejor cromosoma en el eje Y.

Los objetivos a corto plazo se introducen en forma de valores de presión arterial tanto para la sistólica como la diastólica (mm Hg), y se pueden introducir de forma manual durante la ejecución del proceso con el objetivo de adaptar el tratamiento de forma progresiva hasta lograr que el paciente esté en unos valores normales de tensión. Este comportamiento adaptativo se muestra en la Figura 1, donde se introduce cada 32 semanas (iteraciones) un objetivo a corto plazo para observar la obtención de valores normales de tensión de forma progresiva. El intervalo de tiempo entre un objetivo a corto plazo y otro lo establece el médico en función de su criterio profesional.

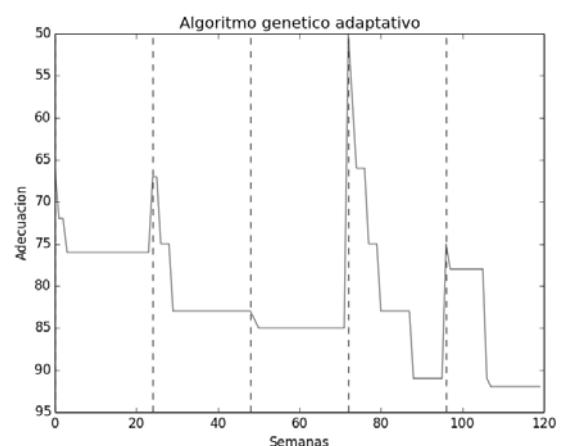


Figura 1. Convergencia con objetivos a corto plazo cada 32 iteraciones: desde hipertensión hasta valores normales

5. Conclusiones

El algoritmo genético adaptativo permite aproximar una función a un determinado objetivo y adaptar su adecuación cuando éste es modificado. De esta manera, el paciente es capaz de realizar un seguimiento de la mejora en su estado de salud de forma progresiva y lograr

objetivos a corto plazo tomando sus propias decisiones. Estas decisiones se toman en función de sus preferencias personales en cuanto a las recomendaciones realizadas, como reducir la ingesta de sal en las comidas o realizar una mayor actividad física, entre otras. De esta manera, la toma de decisiones que toma el paciente, reflejada en los datos obtenidos del mismo y añadidos en el proceso del reemplazamiento generacional del algoritmo, permite una personalización automática en el sistema de ayuda a la decisión.

Para un trabajo futuro se sugiere la posibilidad de añadir más dispositivos digitales, concretamente una pulsera de actividad y una báscula digital, con el objetivo de lograr una serie de recomendaciones más específicas. En este caso, los dispositivos permitirían además controlar la actividad diaria del paciente y su índice de masa corporal respectivamente, obteniendo también así una mejora en el control de la hipertensión.

Conflicto de interés

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido subvencionado por el Ministerio de Economía y Competitividad del Gobierno de España (ref. TIN2014-53067-C3-1-R) y cofinanciado por FEDER.

Referencias

- [1] Página web de la Organización Mundial de la Salud, información sobre la hipertensión (2016). <http://www.who.int/topics/hypertension/en/> (Consultada: Mayo 2016).
- [2] Nolte EE, McKee M. Caring for people with chronic conditions: a health system perspective. *Eur. Obs. Heal. Syst. Policies Ser.*, p. XXI, 259, 2008 (ISSN: 0941-3790).
- [3] Koch T et al. Chronic illness self-management: locating the self. *J. Adv. Nurs.*, vol. 48, no. 5, pp. 484–92, 2004 (ISSN: 0309-2402).
- [4] Goldstein MS. The persistence and resurgence of medical pluralism. *J. Health Polit. Policy Law*, vol. 29, no. 4–5, pp. 925–45–19, 2004 (ISSN: 0361-6878).
- [5] Hong W. et al. A Framework and Guidelines for Context-Specific Theorizing in Information Systems Research. *Inf. Syst. Res.*, vol. 25, no. 1, pp. 111–136, 2014 (ISSN: 1047-7047).
- [6] Douali N et al. Personalized decision support system based on clinical practice guidelines. *Stud. Health Technol. Inform.*, vol. 211, pp. 308–10, 2015 (ISSN: 0926-9630).
- [7] Zheng H et al. Towards a Decision Support Personalised Self Management System for Chronic Conditions. *2008 IEEE International Conference on Networking, Sensing and Control*, pp. 1521–1524, 2008 (ISBN: 978-1-4244-1685-1).
- [8] Lee P et al. Cloud-based BP system integrated with CPOE improves self-management of the hypertensive patients: a randomized controlled trial. *Comput. Methods Programs Biomed.*, vol. 132, pp. 105–113, 2016 (ISSN: 0169-2607).
- [9] Dwarswaard J et al. Self-management support from the perspective of patients with a chronic condition: a thematic synthesis of qualitative studies. *Health Expect.*, vol. 19, no. 2, pp. 194–208, 2016 (ISSN: 1369-7625).
- [10] Lamprinos I et al. Modular ICT-based patient empowerment framework for self-management of diabetes: Design perspectives and validation results. *Int. J. Med. Inform.*, vol. 91, pp. 31–43, 2016 (ISSN: 1386-5056).
- [11] Hallberg I et al. Supporting the self-management of hypertension: Patients' experiences of using a mobile phone-based system. *J. Hum. Hypertens.*, vol. 30, no. 2, pp. 141–6, 2016 (ISSN: 1476-5527).
- [12] Nelson EC et al. Health empowerment through activity trackers: An empirical smart wristband study. *Comput. Human Behav.*, vol. 62, pp. 364–374, 2016 (ISSN: 0747-5632).
- [13] Patterson T et al. KeepWell: A Generic Platform for the Self-Management of Chronic Conditions. in *Journal of health politics, policy and law*, vol. 29, no. 4–5, pp. 891–896, 2016 (ISSN: 0361-6878).
- [14] Hwang CS. Using Genetic Algorithms for Personalized Recommendation. *ICCCI'10 Proceedings of the Second international conference on Computational collective intelligence: technologies and applications*, vol 2, pp. 104–112, 2010 (ISBN: 3-642-16731-4).
- [15] Horváth T. Evolutionary computing in recommender systems: a review of recent research. *Nat. Comput.*, 2016 (ISSN: 1567-7818).
- [16] Goldberg DE. Genetic Algorithms in Search, Optimization and Machine Learning. Vol 1. Addison-Wesley Longman Publishing Co, 1989 (ISBN: 0201157675).

Propuesta de sistema para el seguimiento de enfermos de Crohn

A. De Ramón Fernández¹, D. Marcos Jorquera¹, A. Soriano Payá¹, V. Gilart Iglesias¹, D. Ruiz Fernández¹, J. Ramírez Navarro¹, A. Sanjuan Quiles²

¹ Departamento de Tecnología Informática y Computación, Universidad de Alicante, San Vicente del Raspeig, España, {aderamon,dmarcos,asoriano,vgilart,druiz,jramirez}@dtic.ua.es

² Departamento de Enfermería, Universidad de Alicante, San Vicente del Raspeig, España, angela.sanjuan@ua.es

Resumen

La enfermedad de Crohn (EC), de origen desconocido, se engloba dentro de las enfermedades inflamatorias intestinales (EII). De naturaleza crónica, es causa de una importante pérdida de calidad de vida por parte de aquellos que la sufren. Actualmente, numerosas ineficiencias concurren en el proceso clínico tanto en la fase de diagnóstico como en la de tratamiento. Este artículo presenta un nuevo enfoque basado en la aplicación sobre el proceso clínico actual de una estrategia de gestión de procesos de negocio BPM (Business Process Management) y en la implementación de mejoras que persiguen un aumento del empoderamiento del paciente.

1. Introducción

Las enfermedades crónicas constituyen un problema importante de salud para todas las personas que las sufren y su tratamiento es uno de los retos principales al que se enfrentan las organizaciones sanitarias a nivel mundial. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) [1], este tipo de enfermedades representa el 60% de todas las muertes, siendo por tanto, la principal causa de mortalidad en el mundo. Se caracterizan por ser enfermedades de larga duración y de progresión lenta. La enfermedad de Crohn produce la inflamación del tracto gastrointestinal, y es una de las enfermedades crónicas que presenta más dificultades tanto para ser diagnosticada como para su posterior tratamiento. Este trabajo se centra en la aplicación, sobre el proceso clínico de la enfermedad de Crohn, de una estrategia de gestión de procesos de negocio (Business Process Management, BPM) basado en la mejora continua, usando las tecnologías de la información y comunicación (TICs). A continuación, se describe el marco teórico, el proceso clínico actual con las debilidades detectadas y una propuesta de mejora para dicho proceso.

2. Marco teórico

En estos últimos años se han desarrollado gran variedad de estudios que persiguen mejorar la atención sobre los procesos clínicos de enfermedades crónicas. En la mayoría de los casos se trata de Servicios Web basados en inteligencia artificial que facilitan al paciente el acceso a la información [2][3]. Estos trabajos refuerzan la integración de las TICs en los procesos clínicos, aunque la principal carencia que presentan es que no es el proceso quien gestiona la información proporcionada. Business

Process Management (BPM) consiste en una metodología que permite gestionar procesos analíticos soportados por la tecnología. BPM permite definir los objetivos estratégicos y, a continuación, medir y gestionar su rendimiento. Por otra parte, otros estudios han integrado la tecnología BPM dentro del ámbito sanitario. Becker *et al.* [4] aplicaron BPM para el control de infecciones, mejorando la calidad de vida del paciente y facilitando las tareas del personal involucrado, reduciendo así el coste. En 2012, Scheuerlein *et al.* [5] desarrollaron una guía clínica para el tratamiento del cáncer de colon y de recto usando esta técnica. De este estudio se desprende que la integración en la red informática de un hospital de un lenguaje de modelado de tareas se convertirá en un sistema útil y novedoso en el futuro. Rojo *et al.* [6], utilizaron la notación BPM para modelar procesos de anatomía patológica. En [7] se aplicó BPM para procesos clínicos de neurorrehabilitación. De todos estos trabajos se deduce que la implementación de la tecnología BPM en los distintos procesos clínicos ayuda a reducir el coste, facilita la comunicación entre los profesionales involucrados, detecta y corrige errores y reduce los tiempos de espera, a la vez que se mejora la seguridad de los pacientes.

3. Proceso clínico actual. Debilidades

En el proceso clínico actual de la enfermedad de Crohn intervienen distintos especialistas, siendo la coordinación entre todos ellos un factor muy importante. A continuación se describe el proceso clínico actual en base a distintas guías clínicas consultadas [8,9,10].

El proceso clínico empieza con una primera evaluación de los síntomas realizada por el médico de familia y el equipo de enfermería del hospital o centro de atención primaria. En él se analizan factores relacionados con las heces, posibles malos hábitos alimentarios, tabaquismo, dolor abdominal y otros síntomas indicativos de padecer la enfermedad. De esta forma se crea un perfil médico del paciente. Una vez realizada esta primera evaluación, si existe un riesgo medio-alto de padecer la enfermedad, el médico solicita un examen físico más exhaustivo a través de una prueba de rayos X, valores de presión arterial y/o realización de un electrocardiograma. Posteriormente, si los resultados así lo sugieren, el médico especialista de digestivo ordena el análisis de la calprotectina fecal del

paciente para descartar un posible caso de enfermo de Crohn. Por último, el paciente es sometido a varias pruebas llevadas a cabo por diferentes especialistas, como biopsia, ileocolonoscopia/gastroscopia o enema, entre otros. En el caso de que alguno de ellos sea positivo, el médico puede diagnosticar al paciente como enfermo de Crohn. Una vez que esto ocurre, se clasifica la fase o grado de la enfermedad. En ese momento, se decide si el paciente necesita una intervención quirúrgica o si se deriva a inducción, donde el paciente se encuentra bajo seguimiento. En el caso de que el paciente necesite una intervención quirúrgica, se estudia la posibilidad de derivar el tracto digestivo a un estoma. En este caso se deriva al paciente a un terapeuta estomatólogo, que es quien decide donde se debe colocar el estoma en base a las características del paciente. Además, en este punto, se trabaja en términos de educación para la salud e impacto psicológico sobre el paciente. Tanto si la intervención quirúrgica se lleva a cabo o no, el paciente es evaluado de forma continua en la etapa de seguimiento. En esta fase, las pruebas relacionadas con el diagnóstico se realizan de nuevo con el fin de buscar posibles complicaciones y volver a clasificar el grado de enfermedad del paciente. A modo de resumen, la tabla 1 muestra las fases que tienen lugar en el proceso para su diagnóstico y posterior tratamiento.

Fases proceso diagnóstico y tratamiento	Riesgo	Actuación
1. Valoración inicial	Bajo Medio	No Enfermo Crohn Fase 2
2. Exploración física	Medio Alto	Consulta enfermería Fase 3
3. Analítica completa y prueba calprotectina fecal	Negativa Positiva	Consulta enfermería Fase 4
4. Batería de pruebas de diagnóstico. Interconsulta.	Negativa Positiva	No Enfermo Crohn Fase 5
5. Valoración operación	Negativa Positiva	Fase 6 Quirófano + Fase 6
6. Remisión/Seguimiento	-	Fase1+Fase2+Fase3

Tabla 1. Proceso clínico actual para el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Crohn

El proceso clínico actual de la enfermedad de Crohn presenta numerosas ineficiencias que se traducen principalmente en una importante pérdida de calidad de vida del paciente y en un aumento del coste asociado al proceso. En España, la falta de una guía clínica clara y estandarizada es uno de los principales inconvenientes a los que se enfrenta el personal médico a la hora de tratar la enfermedad. El gran número de síntomas que comparten con otras enfermedades [10] hace que a menudo se produzcan errores de diagnóstico y se incrementa el riesgo de sufrir estenosis en el tracto [11]. La prueba de la calprotectina fecal, que ofrece resultados concluyentes [12], y que ayuda a predecir posibles casos de recurrencia de la enfermedad después de haber sido realizada la cirugía [13], sólo se lleva a cabo al final de la fase de diagnóstico, dilatando así el proceso. Desde el punto de vista del paciente, una de las principales causas que afecta a la calidad de vida es la falta de información que este recibe a lo largo del proceso [14]. Esto es debido

en parte a la falta de implementación de las TICs en los procesos clínicos. La falta de apoyo psicológico es otra de las carencias del proceso actual. Según estudios realizados [15], los pacientes que sufren de algún tipo de enfermedad intestinal presentan mayores índices de morbilidad psicológica que el resto de la población. Todas estas ineficiencias se traducen en numerosas visitas de los pacientes a los centros de salud, produciéndose una importante pérdida de calidad de vida y aumentando el coste asociado al tratamiento de la enfermedad. En [16] se estimó que el coste de la hospitalización de un paciente representa cerca del 40% del coste total del proceso clínico. En la tabla 2, a modo de resumen, se muestran las principales debilidades descritas anteriormente.

Debilidades detectadas
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Falta de guía clínica nacional estandarizada ▪ Numerosos síntomas compatibles con otras enfermedades ▪ Uso de una prueba concluyente (calprotectina fecal) tras largo periodo de espera ▪ Falta de terapia o apoyo psicológico al paciente ▪ Numerosas visitas al centro médico, pérdida de calidad de vida. ▪ Falta de información clara y actualizada durante el proceso ▪ Poca implementación de las TICs en procesos clínicos o con poca implicación del personal sanitario ▪ No existen sistemas de soporte a la decisión clínica ▪ Alto coste asociado del proceso actual y al número de hospitalizaciones ▪ Falta de empoderamiento por parte del paciente

Tabla 2. Proceso clínico actual para el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Crohn

Este artículo persigue, a través de la estrategia BPM, mejorar el empoderamiento y la autogestión de la enfermedad por parte del paciente, obteniendo así una participación activa durante el proceso y mejorando su calidad de vida y reduciendo el coste asociado al proceso.

4. Propuesta de mejora. Arquitectura de sistema

El objeto de estudio de este artículo se centra en el rediseño del proceso clínico de la enfermedad de Crohn una vez que se ha diagnosticado y en la implementación de mejoras a través de la implantación de estrategias de negocio BPM. Su uso ágil y flexible permite que el proceso se adapte a cambios inesperados. El objetivo es definir un modelo global que integre todos los procesos que intervienen en el tratamiento y el seguimiento de la enfermedad, incluyendo la fase de apoyo psicológico al paciente. El sistema BPM nos permite modelar el proceso desarrollando tareas y procesos. Como se muestra en la Figura 1, la arquitectura del Sistema Experto desarrollado conecta a las tres grandes partes intervinientes en el proceso: Paciente, Médico y Data Center. Mediante el uso de dispositivos inteligentes integrados en el sistema a través de Servicio Web, el paciente puede enviar al equipo médico información referida a la valoración de síntomas,

impacto psicológico, hábitos alimenticios, resultados de analíticas de sangre y otros datos de interés clínico. Además datos referidos a la actividad física, masa corporal, y tensión arterial son incorporados automáticamente en el sistema mediante los distintos dispositivos inalámbricos (pulsera de actividad, báscula y tensiómetro) conectados con el paciente. Para descartar un diagnóstico equivocado y acortar el proceso, un dispositivo mide la calprotectina fecal y esta información se integra en el sistema a través de Bluetooth. El Data Center actúa como punto central del sistema y permite almacenar y gestionar estos datos. Además, el Sistema Experto realiza, a través de Agentes de Usuario (AU), recomendaciones basadas en la información recibida a través de algoritmos de inteligencia artificial comportándose como un sistema de ayuda a la decisión (SAD) tanto para el paciente como para el equipo médico. De la misma forma, el paciente es quien decide sobre el cumplimiento de las recomendaciones propuestas, personalizando así el tratamiento y mejorando el empoderamiento del paciente. Con todas estas mejoras, se aumenta la participación del paciente en el proceso, se reducen los costes al evitar visitas innecesarias al centro de salud, y el equipo médico dispone de información actualizada para proponer recomendaciones o pautas en base a un objetivo preestablecido. Para ilustrar la arquitectura propuesta se define a continuación un caso de uso.

Con el objetivo de comprobar si el paciente está mejorando sus niveles de actividad física, éstos son registrados por una pulsera de actividad y enviados vía Bluetooth a un dispositivo móvil que sincroniza y reenvía a su vez estos datos al Data Center.

El SAD, basado en reglas, evalúa los resultados. Si éstos son satisfactorios y están dentro de unos límites preestablecidos, informa al paciente de que la progresión es satisfactoria. En caso contrario, propone modificaciones en la conducta del paciente (incrementar la actividad física, cambiar la rutina de ejercicios, modificaciones en la dieta...). El paciente a su vez, es quien decide qué recomendaciones está dispuesto a seguir, por lo que el SAD reajusta estas recomendaciones según la voluntad de paciente, mejorando así el empoderamiento y la autogestión del proceso por parte del paciente. El procedimiento es el mismo para controlar, a través de los distintos dispositivos, niveles de calprotectina fecal, masa corporal y presión sanguínea... Además, para un mayor control, esta información es recibida por el equipo médico que puede igualmente proponer nuevas acciones. Así, la información se comparte por todas las áreas definidas en la arquitectura, aumentando la supervisión del paciente. Esta información sirve para complementar el historial clínico del paciente y ayudar al equipo médico en la toma de decisiones. El flujo directo de comunicación médico-paciente reduce el número de visitas al centro médico que causan la pérdida de calidad de vida para el paciente y aumentan los costes soportados por el sistema de salud.

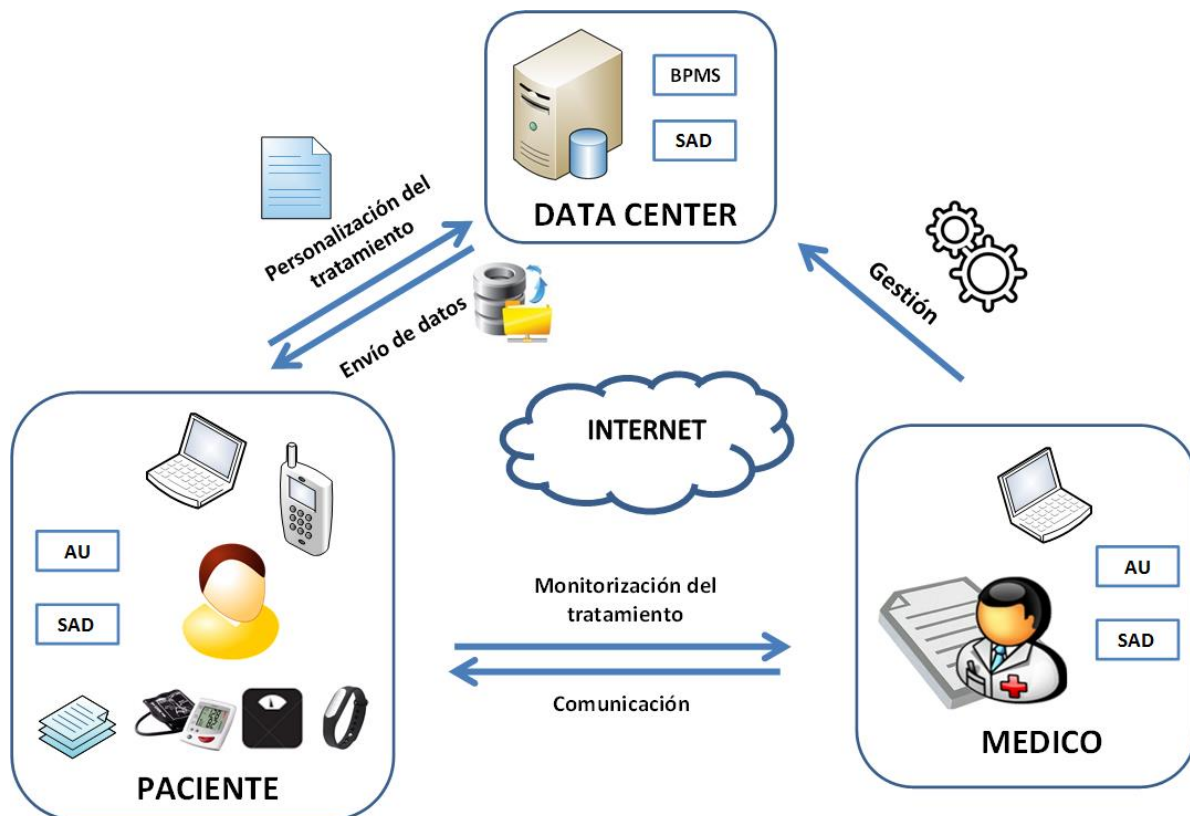


Figura 1. Arquitectura del sistema propuesto para la mejora del proceso clínico de la enfermedad de Crohn

5. Conclusiones

Las enfermedades crónicas representan una gran preocupación para el Sistema de Salud. Las deficiencias en los procesos clínicos repercuten en un aumento de los costes soportados por el Sistema de Salud, a la vez que representan una importante pérdida de calidad de vida en el paciente. Entre las principales ineficiencias a superar, se encuentra la escasa participación del paciente en la gestión del proceso de su enfermedad y en la toma de decisiones. Nuestra propuesta se centra en el aumento del empoderamiento del paciente a través de la aplicación de la estrategia BPM sobre un nuevo rediseño del proceso clínico de Crohn. La integración en el proceso de las TICs, algoritmos de inteligencia artificial y distintos dispositivos de sensorización inalámbricos facilita el intercambio de información entre los distintos participantes durante el proceso, y proveen tanto a paciente como al personal médico de un sistema de ayuda a la decisión. Hasta el momento, las estrategias de procesos de negocio se utilizan principalmente para la gestión de tareas administrativas asociadas a procesos clínicos. Por otra parte, este estudio se considera un primer paso para obtener un modelo global que integra todos los procesos clínicos implicados en la enfermedad de Crohn al tratamiento y seguimiento de la enfermedad.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses en este artículo.

Agradecimientos

Este proyecto ha sido concedido por el Ministerio de Economía y Competitividad del Gobierno de España (ref. TIN2014-53067-C3-1-R) y cofinanciado por FEDER.

Referencias

- [1] Página web de la Organización Mundial de la salud (OMS) http://www.who.int/topics/chronic_diseases/es/ (Consultada: Mayo 2016)
- [2] Alberto Diosa, H., Isaza Peña, C.A., Buenhombre González, T.: Una arquitectura de software para la gestión de historias clínicas electrónicas soportada en tecnologías web. *Ingeniería*. 7, 39–44, 2002, (ISSN: 2344-8393).
- [3] Patterson, T., Cruciani, F., Cleland, I., Nugent, C.D., Black, N.D., McCullagh, P.J., Zheng, H., Donnelly, M.P., McDonough, S., Boyd, A.: KeepWell: A Generic Platform for the Self-Management of Chronic Conditions. In: *Journal of health politics, policy and law*. pp. 891–896, 2016, (ISSN: 0361-6878).
- [4] Becker, J., Fischer, R., Janiesch, C., Scherpbier, H.: Optimizing U.S. healthcare processes: A case study in business process management. In: *Association for Information Systems - 13th Americas Conference on Information Systems, AMCIS 2007: Reaching New Heights*. pp. 2236–2247, 2007.
- [5] Scheuerlein, H., Rauchfuss, F., Dittmar, Y., Molle, R., Lehmann, T., Pienkos, N., Settmacher, U.: New methods for clinical pathways - Business Process Modeling Notation (BPMN) and Tangible Business Process Modeling (t.BPM). *Langenbeck's Arch. Surg.* 397, 755–761, 2012, (ISSN: 14352443).
- [6] Rojo, M.G., Rolón, E., Calahorra, L., García, F.O., Sánchez, R.P., Ruiz, F., Ballester, N., Armenteros, M., Rodríguez, T., Espartero, R.M.: Implementation of the Business Process Modelling Notation (BPMN) in the modelling of anatomic pathology processes. *Diagn. Pathol.* 3 Suppl 1, S22, 2008, (ISSN: 1746-1596).
- [7] Caballero Hernández, R., Gómez Pérez, C., Cáceres Taladriz, C., Rudolph, A.G., Samsó, J.V., Bernabeu Guitart, M., Tormos Muñoz, J.M., Gómez Aguilera, E.J.: Modelado de Procesos de Neurorehabilitación. *Actas del XXIX Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2011)*, Cáceres, 2011 (ISBN: 978-84-614-2693-4)
- [8] Nguyen, G.C., Devlin, S.M., Afif, W., Bressler, B., Gruchy, S.E., Kaplan, G.G., Oliveira, L., Plamondon, S., Seow, C.H., Williams, C., Wong, K., Yan, B.M., Jones, J.: Defining quality indicators for best-practice management of inflammatory bowel disease in Canada. *Can. J. Gastroenterol. Hepatol.* 28, 275–85, 2014, (ISSN: 2291-2797).
- [9] O'Connor, M., Gaarenstroom, J., Kemp, K., Bager, P., van der Woude, C.J.: N-ECCO survey results of nursing practice in caring for patients with Crohn's disease or ulcerative colitis in Europe. *J. Crohn's Colitis*. 8, 1300–7, 2014, (ISSN: 1876-4479).
- [10] Halpin, S.J., Ford, A.C.: Prevalence of symptoms meeting criteria for irritable bowel syndrome in inflammatory bowel disease: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol.* 107, 1474–1482, 2012, (ISSN: 1572-0241).
- [11] Schoepfer, A.M., Dehlavi, M.-A., Fournier, N., Safroneeva, E., Straumann, A., Pittet, V., Peyrin-Biroulet, L., Michetti, P., Rogler, G., Vavricka, S.R.: Diagnostic delay in Crohn's disease is associated with a complicated disease course and increased operation rate. *Am. J. Gastroenterol.* 108, 1744–53, 2013, (ISSN: 1572-0241).
- [12] Meuwis, M.A., Vernier-Massouille, G., Grimaud, J.C., Bouhnik, Y., Laharie, D., Piver, E., Seidel, L., Colombel, J.F., Louis, E.: Serum calprotectin as a biomarker for Crohn's disease. *J. Crohn's Colitis*. 7, 2013, (ISSN: 18739946).
- [13] Lobatón, T., López-García, A., Rodríguez-Moranta, F., Ruiz, A., Rodríguez, L., Guardiola, J.: A new rapid test for fecal calprotectin predicts endoscopic remission and postoperative recurrence in Crohn's disease. *J. Crohn's Colitis*. 7, 2013, (ISSN: 18739946).
- [14] Torrejón Herrera, A., Masachs Peracaula, M., Borruel Sainz, N., Castells Carner, I., Castillejo Badia, N., Malagelada Benaprés, J.R., Casellas Jordá, F.: Aplicación de un modelo de asistencia continuada en la enfermedad inflamatoria intestinal: la Unidad de Atención Crohn-Colitis. *Gastroenterol. Hepatol.* 32, 77–82, 2009 (ISSN: 02105705).
- [15] Maunder, R.G.: Evidence that stress contributes to inflammatory bowel disease: evaluation, synthesis, and future directions. *Inflamm Bowel Dis.* 11, 600–608 (2005)
- [16] Odes, S.: How expensive is inflammatory bowel disease? A critical analysis. *World J. Gastroenterol.* 14, 6641–7, 2008, (ISSN: 1007-9327)

Seguimiento personalizado durante el diagnóstico en mujeres con una lesión mamaria sospechosa

A. Fernández Frías¹, D. Ruiz Fernández², V. Vives Boix²

¹ Servicio de Cirugía, Hospital de Torrevieja, Torrevieja, España, ferfri2002@yahoo.es

² Dpto de Tecnología Informática y Computación, Universidad de Alicante, Alicante, España, {druiz, vvives}@dtic.ua.es

Resumen

El proceso diagnóstico de una lesión mamaria puede durar varias semanas, lo cual influye en el estado de ánimo de las mujeres durante este período. La falta de información aumenta la ansiedad en estas pacientes, que cada vez con más frecuencia utilizan Internet como herramienta de consulta. La aplicación de las tecnologías de la información y la comunicación en el sector sanitario es un campo emergente que permite un fácil acceso a la información sobre salud, la posibilidad de interaccionar con otros pacientes o con profesionales de la salud y el seguimiento de patologías crónicas. En este trabajo se presenta una propuesta basada en tecnología web para facilitar a las pacientes el seguimiento de su diagnóstico y, de esta forma, reducir la ansiedad de este período.

1. Introducción

El cáncer de mama es el tumor maligno más frecuente en las mujeres, con una incidencia en la población femenina española del 29% y una mortalidad a los 5 años del 15.5%, según datos publicados por la Sociedad Española de Oncología Médica en 2014 [1]. Se calcula que en España se diagnostican 25.000 nuevos casos al año, lo que convierte al cáncer de mama en un problema socio-sanitario importante. También es uno de los tumores malignos más mediáticos. Existen campañas de difusión sobre la prevención y el tratamiento del cáncer de mama en los distintos medios de comunicación. Todo esto hace que el cáncer de mama sea una patología conocida y temida por las mujeres.

El proceso diagnóstico de una lesión mamaria puede llegar a durar varias semanas, lo cual influye en el bienestar psicosocial de las mujeres durante este período [2]. Algunos estudios publicados tratan distintos métodos para disminuir la inquietud y la ansiedad que manifiestan las mujeres en esta fase [3], y concluyen que la información y el soporte emocional de las mujeres en la fase diagnóstica ayuda a disminuir los niveles de ansiedad [4]. Otros trabajos defienden la creación de unidades de alta resolución, que disminuyen de forma significativa la duración del período diagnóstico, y con ello también el nivel de ansiedad manifestado por las pacientes [5]. Por

desgracia esta solución no puede aplicarse en todos los hospitales, ya que requiere de personal entrenado e infraestructuras específicas que implican un elevado coste para la sanidad pública. La situación actual del Sistema Nacional de Salud tampoco permite atender a las pacientes en consulta cada vez que se realice una prueba diagnóstica durante la fase de estudio de una lesión mamaria. La falta de información sobre los distintos pasos a seguir y el motivo de realización de los mismos aumentan la ansiedad en las pacientes, que tratan de buscar información sobre su enfermedad por otros medios.

Internet es la herramienta más utilizada en los últimos años por los pacientes para informarse sobre su enfermedad [6], y no es diferente en personas con patología mamaria [7]. Se ha estudiado el aumento en la búsqueda de información y de apoyo en Internet, sobre todo en pacientes con patologías crónicas. La conclusión es que los usuarios no siempre encuentran la información deseada y que la orientación por parte de los profesionales mejoraría de forma considerable esta herramienta de transmisión de la información [8]. En general, los avances en tecnología de la información y la comunicación permiten una mayor interacción entre el personal de salud y los pacientes [9]. Herramientas como Facebook [10] o Twitter [11] son importantes vectores de la información, donde se crean cada vez con más frecuencia grupos de apoyo y de educación para la salud. En el caso del cáncer de mama, mejoran el conocimiento de los pacientes sobre su enfermedad y disminuye el nivel de ansiedad percibido, sobre todo en las fases más precoces, como el diagnóstico y los primeros meses de tratamiento.

En este trabajo se plantea el desarrollo de una plataforma web que sirva de interacción entre el paciente y el médico y que, especialmente, proporcione información personalizada a las pacientes durante la fase de diagnóstico de su patología. Además, se contempla la incorporación de una aplicación móvil que facilite el registro por parte de la paciente de su estado de ánimo, de manera que el médico pueda conocer también el estado anímico de la paciente.

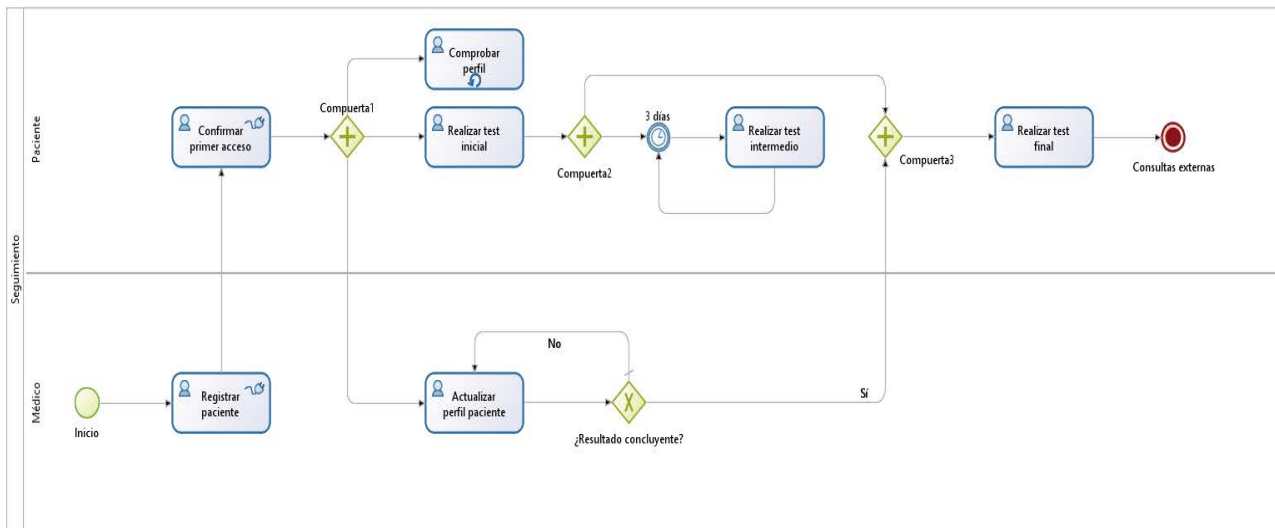


Figura 1. Modelo del diseño del proceso de diagnóstico.

2. Modelado del proceso

El primer paso del proyecto implica el análisis del proceso actual de diagnóstico para poder modelarlo y estudiar en qué fases del proceso es posible proporcionar información que resulte útil a la paciente. Para realizar este modelo se ha utilizado BPMN (*Business Process Management Notation*) siguiendo los principios de las primeras etapas de una estrategia BPM (*Business Process Management*): conocimiento del proceso o procesos, análisis de los mismos a través de su modelado y optimización del modelo reduciendo las debilidades del proceso. En nuestro caso concreto las debilidades que se analizan están directamente relacionadas con la transmisión de información unidireccionalmente del médico al paciente.

Una vez es detectada una lesión mamaria en una mujer se realizan diversas pruebas (mamografías, biopsias, etc.) con el objetivo de descartar un cáncer de mama. El número de pruebas a que debe someterse varía en función de la lesión y de los resultados obtenidos en pruebas previas. El problema no es la cantidad de pruebas sino los periodos entre las mismas y el desconocimiento por parte de las pacientes de los resultados y también del objetivo de las sucesivas pruebas.

En líneas generales, el proceso estudiado es el siguiente: el proceso de diagnóstico de cáncer de mama comienza tras la realización de la primera biopsia al paciente. Una vez obtenidos los resultados, el médico los analiza y determina si son excluyentes o no, es decir, si es necesario continuar realizando pruebas. En caso de que

los resultados sean excluyentes, al paciente se le concierta una cita en consultas externas y el proceso diagnóstico finaliza. En caso contrario, el médico determina si es necesario realizar una resonancia nuclear magnética, una segunda biopsia o incluso ambas pruebas en algunos casos. Una vez finalizada las pruebas el médico realiza el mismo procedimiento, analizar y determinar si las pruebas son concluyentes. Si son concluyentes el proceso finaliza concertando la cita del paciente en consultas externas, y en caso contrario se continúa el proceso realizando una re-evaluación mediante una ecografía. Tras la re-evaluación, el médico determina si es necesaria una tercera biopsia o si finaliza el proceso, también en consultas externas. En caso de ser necesaria una tercera biopsia, independientemente de los resultados se concierta una cita con el médico y se finaliza el proceso diagnóstico. En el rediseño del proceso se plantea informar a la paciente de su situación tras cada una de estas pruebas. Además, también se contempla la realización de tests durante el proceso para evaluar el estado de ánimo de la paciente y su nivel de ansiedad.

En la figura 1 se puede observar una vista parcial del modelo final obtenido del proceso de diagnóstico tras la optimización; esto es, la incorporación de tecnologías de la información y las comunicaciones en aquellos momentos en los que hemos detectado una falta de información. El modelo se ha realizado utilizando el software de la empresa Bonitasoft © BonitaBPM versión Community 7.1.4. En el modelo se describen todas las fases del diagnóstico de una lesión mamaria y las distintas intervenciones de las partes implicadas para que la información se integre de manera eficaz en el proceso.

3. Desarrollo del sistema

El sistema propuesto consta de dos elementos que facilitan la interacción y la recepción de información. En la figura 2 se puede observar un esquema del sistema. El elemento central consiste en una plataforma web a la cual se accede mediante un usuario y contraseña que se ha proporcionado previamente a la paciente. Toda la información se proporciona exclusivamente tras la identificación de la paciente ya que esta información se encuentra personalizada; se proporcionará información general sobre la patología mamaria, así como la información específica del proceso diagnóstico individual de cada paciente; también se informará de las fechas de las próximas citas y del motivo de cada una de ellas.

El segundo elemento del sistema es un módulo para el móvil (app). Este módulo tiene una doble utilidad: por una parte permitirá a las pacientes introducir en cualquier lugar y a cualquier hora del día su estado de ánimo de una forma sencilla e intuitiva, a través de una escala numérica en la que 1 sería un mal estado de ánimo y un 5 correspondería a un excelente estado de ánimo; por otro lado, para evitar que la espera de información en el portal web sea motivo de ansiedad, esta app avisará a las pacientes cuando haya información actualizada en su portal web personalizado (evitando así constantes accesos sin obtener el resultado esperado). En la otra parte del sistema se encuentra el médico que es el encargado de mantener la información clínica actualizada y de revisar los datos (estado de ánimo) proporcionados por la paciente.

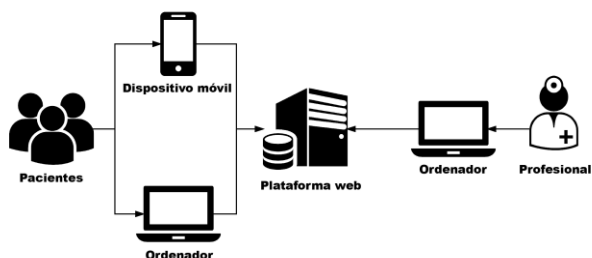


Figura 2. Esquema del sistema propuesto.

En el sistema también se incluye información sobre el cáncer de mama y su tratamiento, además de una sección de preguntas frecuentes con las dudas más habituales en pacientes recién diagnosticadas. El objetivo de incluir estas secciones es proporcionar a las pacientes una única fuente de información contrastada por profesionales y evitar así la obtención de información errónea a través de

las redes sociales, foros o páginas web ajenas al ámbito sanitario. Además, también se previene la cibercondría o práctica del autodiagnóstico por internet, un fenómeno que eleva considerablemente el grado de ansiedad [15].

La implementación del sistema se ha realizado utilizando la suite de Bonitasoft© y su REST API. En la figura 3 se puede observar un ejemplo del interfaz implementado para la entrada de información al inicio del proceso de seguimiento. También se ha utilizado el Engine API (aplicación Java) de la misma suite, que permite ejecutar la definición de procesos creados con Bonita BPM. Este API permite al usuario interactuar mediante programación con los distintos procesos. Algunos de los servicios creados se presentan a continuación:

- Servicios centrados en los datos. El propósito de los servicios centrados en los datos es manejar la persistencia, el almacenamiento, la recuperación y la gestión transaccional de los mismos.
 - Registrar paciente
 - Actualizar perfil paciente
 - Comprobar perfil paciente
- Servicios centrados en la lógica. El propósito de los servicios centrados en la lógica es proveer encapsulamiento para reglas de negocio, como bibliotecas y frameworks.
 - Notificar primer acceso por correo electrónico
 - Enviar test inicial por correo electrónico
 - Comprobar test de ansiedad

4. Conclusión

En este trabajo se ha presentado el diseño de un sistema orientado a mejorar el seguimiento de pacientes con una lesión mamaria a lo largo del proceso de su diagnóstico. En primer lugar se ha realizado un análisis utilizando una metodología BPM y modelando todo el proceso con BPMN. Seguidamente se ha implementado un sistema que permite la interacción indirecta con el médico, a través del cual la paciente va recibiendo información personalizada sobre las diferentes etapas del proceso de diagnóstico.

También se ha incorporado un módulo que facilita a través del móvil, de forma manual, información sobre el estado de ánimo de la paciente.

Finalmente, como trabajo futuro, se plantea realizar un estudio comparativo para evaluar si el sistema ayuda a las pacientes en el control de la ansiedad asociada al proceso de diagnóstico de un cáncer de mama.

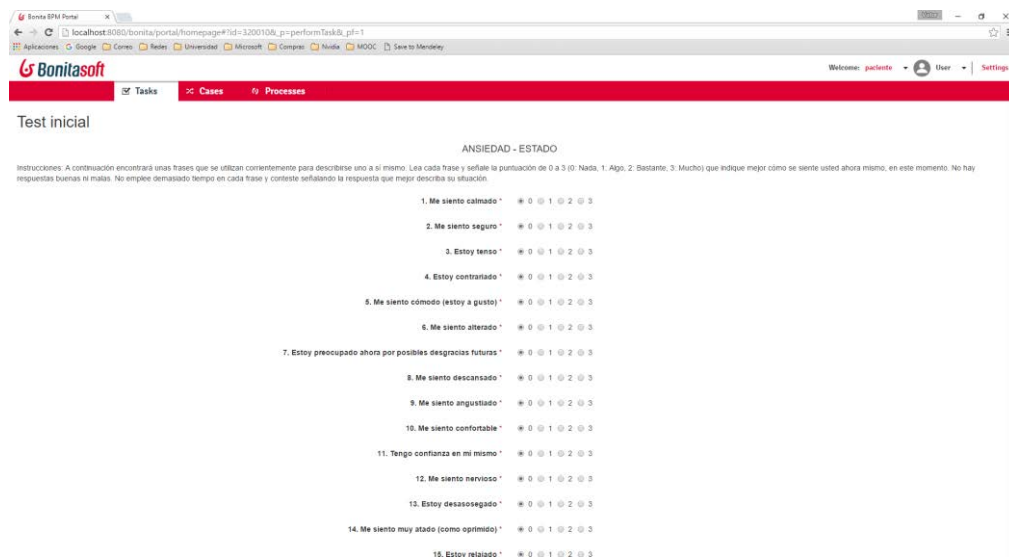


Figura 3. Interfaz del sistema: entrada de datos.

Referencias

- [1] Página web de la Sociedad Española de Oncología Médica. www.seom.org
- [2] L Jiang, J Gilbert, H Langley, R Moineddin and P A Groome. Effect of specialized diagnostic assessment units on the time to diagnosis in screen-detected breast cancer patients. *British Journal of Cancer* **112**, 1744-1750 (26 May 2015)
- [3] Montgomery M, McCrone S. Psychological distress associated with the diagnostic phase for suspected breast cancer: Systematic review. *Journal of Advanced Nursing* (2010). Volume: 66, Issue: 11, Pages: 2372-2390
- [4] Mei N. Liao, Ping Ling Chen, Miin F. Chen, Shin Cheh Chen Effect of supportive care on the anxiety of women with suspected breast cancer. *Journal of Advanced Nursing* (2010). Volume: 66, Issue: 1, Pages: 49-59
- [5] [Berman A](#), [Teig B](#), [Duracinsky M](#), [Gayet M](#), [Bellin MF](#), [Guettier C](#), [Fernandez H](#), [Nazac A](#). One day diagnosis for breast lesions: Medical and psychological assessment - EVADIASEIN study. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 2016 Jan;45(1):21-8. doi: 10.1016/j.jgyn.2015.01.003. Epub 2015 Feb 25.
- [6] Tendencias en el uso de Internet como fuente de información sobre salud Jaime Jiménez Permett, José Francisco García Gutiérrez, José Luis Martín Jiménez, C. Bermúdez-Tamayo. *UOC Papers: revista sobre la sociedad del conocimiento* (2007), Issue: 4, Pages: 10-. ISSN: 1885-1541
- [7] Necesidades de información y uso de Internet en pacientes con cáncer de mama en España. [Analía Abt Sacks](#), [Susana Pablo Hernando](#), [Pedro Serrano Aguilar](#), [Enrique Fernández Vega](#), [Roberto Luis Martín Fernández](#). *Gaceta sanitaria: Organó oficial de la Sociedad Española de Salud Pública y Administración Sanitaria*, ISSN 0213-9111, Vol. 27, N.º. 3, 2013, págs. 241-247
- [8] Dr Google and the consumer: A qualitative study exploring the navigational needs and online health information-seeking behaviors of consumers with chronic health conditions. Kenneth Lee, Kreshnik Hoti, Jeffery David Hughes, Lynne Emmerton. *Journal of Medical Internet Research* (2014), Volume: 16, Issue: 12, Publisher: Journal of Medical Internet Research ISSN: 14388871
- [9] Las nuevas competencias TIC en el personal de los servicios de salud. Raúl Choque Larrauri. *Revista de Comunicación y Salud* (2012), Volume: 1, Issue: 2, Pages: 47-60 ISSN: 2173-1675
- [10] Seeking support on facebook: A content analysis of breast cancer groups. Jacqueline L. Bender, Maria Carolina Jimenez-Marroquin, Alejandro R. Jadad. *Journal of Medical Internet Research* (2011), Volume: 13, Issue: 1. ISSN: 14388871
- [11] Twitter Social Media is an Effective Tool for Breast Cancer Patient Education and Support: Patient-Reported Outcomes by Survey. Deanna J Attai, Michael S Cowher, Mohammed Al-Hamadani, Jody M Schoger, Alicia C Staley, Jeffrey Landercasper. *Journal of medical Internet research* (2015), Volume: 17, Issue: 7, Pages: e188 ISSN: 1438-8871

Pósters 3

Viernes 25 de Noviembre

Análisis predictivo de respuesta a la Terapia de Resincronización Cardíaca mediante análisis del ECG

N. Ortigosa¹, J. Osca², R. Jiménez², Y. Rodríguez², C. Fernández³, A. Galbis³

¹ I.U. Matemática Pura y Aplicada, Universitat Politècnica de València, nuorar@upvnet.upv.es

² Unidad de Arritmias, Servicio de Cardiología, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, j_osca@ono.com

³ Departament d'Anàlisi Matemàtica, Universitat de València, {fernand, antonio.galbis}@uv.es

Resumen

La Terapia de Resincronización Cardíaca (TRC) es un tratamiento efectivo para pacientes aquejados de insuficiencia cardíaca con síntomas moderados a severos. Desafortunadamente, una proporción significativa de pacientes (aproximadamente el 35%) no responde al tratamiento. El objetivo del presente estudio es determinar un método para proporcionar una predicción acerca de la respuesta positiva o negativa a la TRC mediante el análisis del electrocardiograma. Para ello, proponemos estudiar una medida de la energía de la señal junto con la duración de los complejos QRS. Los resultados de predicción obtenidos sobre una cohorte de 45 pacientes han sido: precisión=77.78%, sensibilidad=80%, especificidad=70%, lo que puede abrir una puerta a intentar ayudar a reducir el número de intervenciones no exitosas en la práctica clínica.

1. Introducción

La insuficiencia cardíaca está generalmente causada por una baja capacidad de contracción de los ventrículos. Además, algunos pacientes con insuficiencia cardíaca también presentan una desincronización significativa de los ventrículos, lo que deteriora, todavía más, el rendimiento de la función cardíaca.

Desde el año 2003, la Terapia de Resincronización Cardíaca (TRC) se ha establecido como el tratamiento de elección para la insuficiencia cardíaca congestiva debida al debilitamiento del músculo cardíaco (cardiomiopatía) [1]. La TRC consiste en la implantación de un marcapasos biventricular para restaurar la contracción sincrona, habiendo mostrado capacidad de mejorar la calidad de vida aumentando la funcionalidad cardíaca y la supervivencia [2].

La estimulación simultánea de tanto el ventrículo izquierdo como el derecho es capaz de restaurar la actividad de bombeo de forma coordinada, tratando así la reducción de esta capacidad de bombeo del músculo cardíaco de los pacientes que sufren insuficiencia cardíaca (habitualmente también con bloqueo de rama izquierda).

La Figura 1 muestra una radiografía de un paciente que ha sido sometido a TRC.

Sin embargo, la respuesta a la TRC varía de forma notable entre pacientes: al menos, un tercio de los pacientes que son sometidos a TRC no responden a ella [3]. Hasta ahora, la duración del complejo QRS del

electrocardiograma ha sido el estándar más utilizado y que mejor ha funcionado para predecir la respuesta a esta terapia, seleccionando acorde a él a los pacientes más indicados [4].

Lamentablemente, a pesar de los numerosos estudios que hay en el estado del arte para tratar de identificar y predecir con la mayor precisión posible la respuesta a la TRC, a día de hoy todavía no existe una variable que sea capaz de proporcionar un pronóstico con acierto superior al 70% [3, 5-9].

El trabajo realizado en este estudio presenta una nueva medida capaz de mejorar los resultados predictivos de la respuesta a la TRC mediante el análisis del electrocardiograma de superficie. La característica presentada es una medida de la energía de los complejos QRS de los pacientes aquejados de insuficiencia cardíaca calculada de forma previa a la implantación del marcapasos biventricular, como se detalla en las siguientes secciones de este artículo.

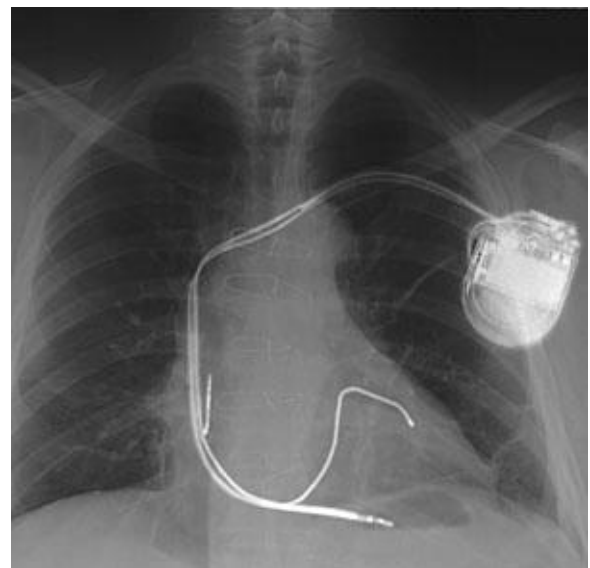


Figura 1. Radiografía del torso de un paciente sometido a TRC, donde se puede observar que el marcapasos estimula a ambos ventrículos (izquierdo y derecho).

2. Materiales

La población analizada en este estudio retrospectivo está conformada por 45 pacientes con insuficiencia cardiaca que fueron sometidos a la TRC y a los que les fue registrado el electrocardiograma de superficie (derivación II) con anterioridad a la implantación del marcapasos. Los ECG fueron adquiridos a una frecuencia de muestreo de 500Hz, con una resolución de amplitud de $5\mu\text{V}$ sobre un rango de amplitud de $\pm 5\text{mV}$.

Todos los pacientes estudiados fueron determinados previamente como candidatos idóneos para realizarles la TRC. El diagnóstico, tratamiento y seguimiento fue realizado por el Servicio de Cardiología del Hospital Universitari i Politècnic La Fe de Valencia.

Los pacientes fueron subclasificados en aquellos que presentaban cardiomiopatías dilatada (27 pacientes) o isquémica (18 pacientes).

Una vez realizada la TRC, los pacientes fueron considerados como respondedores a la misma cuando la fracción de eyección ventricular izquierda (LVEF) aumentaba como mínimo un 5%, y la clase acorde a la Asociación del Corazón de Nueva York (la utilizada habitualmente) era superior o igual a 1 3 meses después de la implantación del marcapasos. Acorde a estos criterios, 35 de los 45 pacientes fueron clínicamente clasificados como respondedores a la TRC.

La Tabla 1 muestra un detalle de la distribución de los pacientes incluidos en este estudio.

	Respondedores	No respondedores
Todos	35	10
Cardiomiopatía dilatada	24	3
Cardiomiopatía isquémica	11	7

Tabla 1. Distribución de los pacientes que conforman la cohorte bajo estudio.

3. Métodos

3.1. Preprocesado

El ruido base y la interferencia de red a 50Hz fueron eliminados en primer lugar de las señales electrocardiográficas.

En particular, el ruido base, de muy baja frecuencia y debido fundamentalmente a movimientos de la respiración, se eliminó mediante splines cúbicos [10].

Una vez realizados los filtrados, se procedió a delinear el ECG para detectar los puntos de inicio y final de los complejos QRS.

3.2. Medida propuesta

El análisis tiempo-frecuencia es capaz de proporcionar información acerca de la variación del contenido espectral a lo largo del tiempo, al contrario que la transformada de Fourier. Esta característica es muy relevante en señales no estacionarias (como el ECG), cuyo contenido frecuencial varía con el tiempo.

Existen diversas transformadas tiempo-frecuencia, cada una con ventajas e inconvenientes. El problema principal que presentan las distribuciones lineales es que, por el principio de incertidumbre, no es posible obtener simultáneamente una buena resolución temporal y frecuencial. Esto conlleva que una buena resolución temporal conducirá a un empeoramiento en la resolución frecuencial y viceversa.

Una de las transformadas con mejores propiedades que proporciona referencia global de fase y resolución progresiva es la transformada de Stockwell [11]. La resolución progresiva se obtiene mediante un tamaño de ventana adaptativo. De esta forma, la resolución progresiva permite tener una buena resolución frecuencial a bajas frecuencias, y tener también una buena resolución temporal a altas frecuencias [12].

La expresión analítica de la transformada de Stockwell es:

$$(Sf)(\tau, \nu) = |\nu| \int_{-\infty}^{\infty} g_0(\nu(t - \tau)) e^{-2\pi i \nu t} f(t) dt$$

donde f es la señal sobre la que realizar el análisis y g_0 es una ventana gaussiana.

Esta transformada puede verse como una transformada de Fourier en tiempo corto en la que el tamaño de la ventana varía con la frecuencia.

El principal inconveniente que presenta es su alto coste computacional y los requerimientos de memoria necesarios para realizar su cálculo. Afortunadamente, en la referencia [13] propusieron una implementación eficiente y no redundante, basada en un muestreo diádico del espacio tiempo-frecuencia.

En este trabajo hemos utilizado esta implementación eficiente para estimar una medida de la energía de los complejos QRS. De este modo, definimos la medida de la energía E :

$$E = \sum_{\omega=2}^{\omega=B} \frac{\sum_{t=0}^{t=N-1} |TF(t, \omega)|^2}{\omega_c^2}$$

donde TF son los coeficientes del espacio tiempo-frecuencia (calculados sobre cada complejo QRS), B es el número de bandas de frecuencia del espectro, ω_c denota la frecuencia central de cada una de esas bandas, y N es el número de ventanas temporales analizadas en cada banda de frecuencia.

La medida propuesta en este estudio para predecir la respuesta a la TRC es el promedio de todas las medidas E calculadas para cada complejo QRS: $(\sum_{k=1}^{k=n} E_k)/n$, donde

n denota el número de complejos QRS existentes en la señal bajo análisis.

3.3. Clasificación

Para obtener un estimador de la respuesta, aplicamos un clasificador lineal, obtenido mediante resolución del problema de ajuste por mínimos cuadrados.

Los resultados de clasificación obtenidos fueron medidos utilizando las variables precisión (proporción total de pacientes correctamente clasificados), sensibilidad y especificidad (proporción de respondedores y no respondedores correctamente clasificados, acorde a los datos clínicos) y valor predictivo positivo:

$$\text{Precisión} = \frac{VP + VN}{VP + FP + VN + FN}$$

$$\text{Sensibilidad} = \frac{VP}{VP + FN}$$

$$\text{Especificidad} = \frac{VN}{VN + FP}$$

$$\text{Valor Predictivo Positivo} = \frac{VP}{VP + FP}$$

donde VP (verdaderos positivos) y VN (verdaderos negativos) hacen referencia a los pacientes respondedores y no respondedores a TRC que fueron correctamente clasificados en su tipo. FP y FN corresponden a los pacientes no respondedores y los respondedores que fueron erróneamente clasificados como respondedores y no respondedores, respectivamente.

4. Resultados

Como fue comentado en la sección 2, nuestro conjunto de señales está conformado por 45 electrocardiogramas de diferentes pacientes aquejados de insuficiencia cardiaca que fueron considerados óptimos candidatos para someterse a la TRC.

En la Tabla 2 se incluyen los valores que toman las características para los pacientes de este estudio. En la Tabla 3 se muestran los resultados de clasificación tras aplicar el ajuste lineal por mínimos cuadrados utilizando como características la medida de energía propuesta y la duración de los complejos QRS. Los resultados también detallan los valores de clasificación diferenciando los pacientes según presentaran cardiomiopatías isquémicas o dilatadas.

Por su parte, la Figura 2 muestra la curva ROC del clasificador junto con el valor del área bajo la curva.

En los resultados anteriores puede observarse que los pacientes que clínicamente fueron no respondedores a la TRC presentaron valores significativamente inferiores

para la medida propuesta frente a los que sí respondían al tratamiento.

	Medida propuesta (mV ² /Hz ²)	Duración QRS (ms)
Respondedores	95538*	225
Cardiomiopatía dilatada	73927	228*
Cardiomiopatía isquémica	76130*	222
No respondedores	45516*	180
Cardiomiopatía dilatada	40256	148*
Cardiomiopatía isquémica	31768*	194

Tabla 2. Valores medios de las características (medida propuesta en este estudio y duración de los complejos QRS previas a la implantación del marcapasos biventricular. El símbolo * denota significación estadística, con valores $p < 0.05$ para el test de Wilcoxon.

	Precisión	Sens.	Espec.	VPP
Todos	77.78%	80%	70%	90.3%
Cardiomiopatía dilatada	77.78%	79.17%	66.67%	95%
Cardiomiopatía isquémica	77.78%	81.82%	71.43%	81.82%

Tabla 3. Resultados de clasificación para la cohorte completa de pacientes y para los subgrupos. Sens., Espec. y VPP son sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo

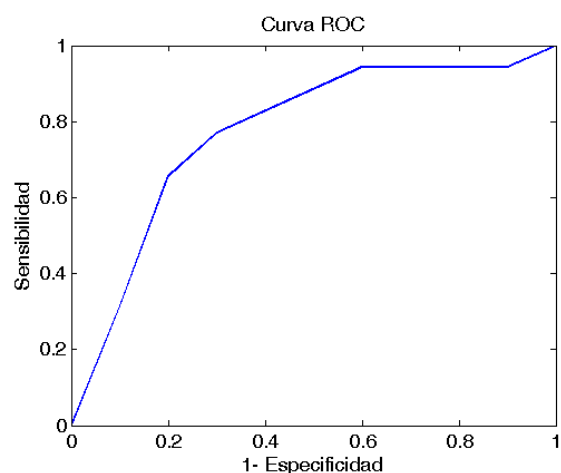


Figura 2. Curva ROC para el clasificador propuesto. El valor del área bajo la curva es 0.7729.

Este hecho puede deberse a que la medida de energía propuesta puede considerarse también como una medida de la asincronía de la actividad eléctrica de los ventrículos, que se produce en aquellos pacientes que no responden a la TRC.

El subgrupo de los pacientes que tenían cardiomiopatía isquémica era el que obtenía mejores resultados de predicción, mientras que los pacientes con cardiomiopatía dilatada fueron aquellos que presentaron valores menores de especificidad. No obstante, estos resultados deben considerarse con cautela, debido al número pequeño de pacientes no respondedores que había en este subgrupo (únicamente 3). Además, el número de pacientes incluido en el estudio no es lo suficientemente grande como para poder realizar una clasificación formando dos grupos independientes: uno para entrenamiento del clasificador y otro para test, por lo que se han presentado los resultados de un clasificador lineal aplicado sobre el total de los pacientes incluidos en la cohorte bajo estudio (y, en su caso, con los resultados de clasificación de los diferentes subgrupos con el clasificador inicial).

Será necesario por tanto seguir realizando estudios en cohortes mayores de pacientes para poder alcanzar un análisis completo, así como una caracterización de la medida propuesta.

5. Conclusiones

En este trabajo hemos presentado un estudio retrospectivo realizado sobre pacientes con insuficiencia cardiaca que han sido sometidos a terapia de resincronización cardiaca.

Los resultados apuntan a una medida basada en la energía de los complejos QRS del electrocardiograma como característica complementaria a la duración de dichos complejos para proporcionar resultados predictivos. Esta medida es significativamente mayor en los pacientes que responden a la TRC frente a aquellos que no lo hacen, siendo especialmente significativa en el subgrupo de pacientes que presentan cardiomiopatía isquémica.

El trabajo futuro se centrará en ampliar la cohorte bajo estudio y mejorar los resultados.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Generalitat Valenciana en el proyecto PrometeoII/2013/013, y por el MINECO en el proyecto MTM2013-43540-P.

Referencias

- [1] Shea J, Sweeney M. Cardiac Resynchronization Therapy: A Patient's Guide. *Circulation*, vol 108, 2003, pp e64–e66.
- [2] van Stipdonk A, Wijers S, Meine M, Vernooij K. ECG Patterns In Cardiac Resynchronization Therapy. *Journal of Atrial Fibrillation*, vol 7, sup 6, 2015, pp 33–38.
- [3] Al Hebaishi Y, Al Shehri H, Al Moghairi A. Predictors of Cardiac Resynchronization Therapy Response: The Pivotal Role of Electrocardiogram. *The Scientific World Journal* 2013:ID 837086, 6 pages.
- [4] Priori S, Blomström-Lundqvist C, Mazzanti A, Bloma N, Borggrefe M, Camm J, Elliott P, Fitzsimons D, Hatala R, Hindricks G, Kirchhof P, Kjeldsen K, Kuck K, Hernandez-Madrid A, Nikolaou N, Norekval T, Spaulding C, Van Veldhuisen D. 2015 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death. *European Heart Journal*, vol 36, 2015, pp 2793–2867.
- [5] Foley PWX, Leyva F, Frenneaux MP. What is treatment success in cardiac resynchronization therapy? *Europace*, vol. 11, sup 5, 2009, pp v58-v65.
- [6] Gervais R, Leclercq C, Shankar A, Jacobs S, Eiskjaer H, Johannessen A, Freemantle N, Cleland JGF, Tavazzi L, Daubert C. Surface electrocardiogram to predict outcome in candidates for cardiac resynchronization therapy: a sub-analysis of the CARE-HF trial. *European Journal of Heart Failure*, vol 11, 2009, pp 699-705.
- [7] Abraham WT, Fisher WG, Smith AL, Delurgio DB, Leon AR, Loh E, Kocovic DZ, Packer M, Clavell AL, Hayes DL, Ellestad M, Trupp RJ, Underwood J, Pickering F, Truex C, McAtee P, Messenger J. MIRACLE Study Group. Multicenter InSync Randomized Clinical Evaluation. Cardiac resynchronization in chronic heart failure. *N Engl J Med*. Vol 346, 2002, pp 1845–1853.
- [8] Canby RC, Schroeder JS, Liem LB, Hall S, Wheelan K. Multicenter InSync ICD Randomized Clinical Evaluation (MIRACLE ICD) Trial Investigators. Combined cardiac resynchronization and implantable cardioversion defibrillation in advanced chronic heart failure: the MIRACLE ICD Trial. *JAMA*, vol 289, 2003, pp 2685–2694.
- [9] Goldenberg I, Moss AJ, Hall J, Foster E, Goldberger JJ, Santucci P, Shinn T, Solomon S, Steinberg JS, Wilver D, Barsheshet A, McNitt S, Zareba W, Klein H. Predictors of Response to Cardiac Resynchronization Therapy in the Multicenter Automatic Defibrillator Implantation Trial With Cardiac Resynchronization Therapy (MADIT-CRT). *Circulation*, vol 124, sup 14, 2011, pp 1527-36.
- [10] Meyer CR, Keiser HN. Electrocardiogram baseline noise estimation and removal using cubic splines and statespace computation techniques. *Comput. Biomed. Res.*, vol 10, 1977, pp 459–470.
- [11] Stockwell R, Mansinha L, Lowe RP. Localization of the complex spectrum: The S transform. *IEEE Trans. Signal Process.*, vol 44, sup 4, 1996, pp 998–1001.
- [12] Stockwell RG. Why use the S-transform? In Pseudo-Differential Operators: Partial Differential Equations and Time-Frequency Analysis, volume 52 of Fields Institute Communications. AMS, 2007; 279–309.
- [13] Brown R, Lauzon M, Frayne R. A General Description of Linear Time-Frequency Transforms and Formulation of a Fast, Invertible Transform That Samples the Continuous STransform Spectrum Nonredundantly. *IEEE Trans. Signal Process.*, vol 58, sup 1, 2010, pp 281–290.

Clasificación de registros de microelectrodo para localización de zonas de estimulación en pacientes de Parkinson

JV Frances-Villora¹, A Rosado Muñoz¹, M Bataller Mompeán¹, L Schiaffino², A Gutiérrez Martín³, V Teruel Martí⁴, I Martínez Torres³, P Rubio³, J Martínez Ricós⁴, A Cervera Ferri⁴, S Martínez Bellver⁴, J Guerrero Martínez¹

¹Grupo de Procesado y Diseño Digitales, Universidad de Valencia, Valencia, España

²Engineering Faculty, LIRINS, National University of Entre Ríos, Oro Verde, Argentina

³Servicio de Neurocirugía y Neurología, Hospital La Fe, Valencia, España

⁴Laboratorio de Circuitos Neuronales, Universidad de Valencia, Valencia, España

Resumen

En el tratamiento de enfermos de Parkinson mediante estimulación cerebral profunda se debe implantar un electrodo de estimulación en el núcleo subtalámico (STN). Para determinar la localización óptima, se realizan registros de microelectrodos (MER) a partir de diferentes trayectorias exploratorias. Algunos estudios indican que la actividad β (13-35Hz) determina en muchos casos una óptima localización del electrodo de estimulación. El presente trabajo analiza características frecuenciales basadas en la banda β y utilizando 7 clasificadores diferentes. Los resultados obtenidos muestran una ratio de error de clasificación entre el 35,6% y el 25,7% para el mejor caso, confirmando la importancia de la banda β en la localización del STN.

Keywords— Deep Brain Stimulation, Parkinson, spike signal processing.

1. Introducción

La estimulación cerebral profunda (DBS, *Deep Brain Stimulation*) se aplica a pacientes con enfermedades neurológicas relacionadas con trastornos de movimiento, como es el caso del Parkinson. Para el tratamiento mediante DBS, es necesario situar el electrodo de estimulación en el núcleo subtalámico (STN), una estructura localizada junto a la sustancia negra (SN) y al tálamo (TH) [1].

Durante la cirugía de implante del estimulador DBS se obtiene un registro (MER, *microelectrode register*) en distintos puntos de la trayectoria de inserción del electrodo multicanal. La señal MER obtenida está compuesta por la actividad de las neuronas más cercanas al electrodo (espigas), y una actividad basal relacionada con diversas fuentes, tales como neuronas lejanas, artefactos y ruido del sistema de medida. Dicha señal presenta características propias en función de las zonas que se atraviesan a lo largo de la trayectoria, por lo que un análisis de la misma permite localizar zonas funcionales y ajustar la posición final de estimulación en el STN. Estas características varían en función de que el paciente esté sometido a anestesia general o no [2] [3].

La morfología de las señales MER es utilizada intraoperatoriamente por expertos neurofisiólogos como método para la identificación del STN. La utilización de técnicas automáticas para la determinación de la entrada y la salida del STN pueden servir como herramienta de apoyo a la decisión para optimizar la selección del emplazamiento final del electrodo, e incluso minimizar el número de trayectorias realizadas durante la exploración intraoperatoria.

Para la detección automática de la entrada del electrodo en zona STN, algunos trabajos aplican una extracción de características temporales como entrada al algoritmo de clasificación [4]. Sin embargo, se ha encontrado que la mejora postoperatoria producida por la estimulación está relacionada con la actividad β (13-35Hz), y que, en caso de haber una gran actividad β , el centro de la región dorsolateral determina una más óptima localización del electrodo activo de estimulación que el centro del STN [5]. Sin embargo, Chaovalitwongse [6] determinó que las características temporales, aplicadas a la clasificación supervisada, permiten obtener una mejor localización de STN que las características frecuenciales.

El objetivo del presente trabajo es estudiar las prestaciones de la detección de STN basada esencialmente en las características frecuenciales relacionadas con la banda β . Así, se pretende comprobar si dichas características son superiores a las características temporales que usualmente se utilizan en la literatura para dicha detección.

2. Métodos

Este apartado describe el procedimiento experimental utilizado para obtener los datos, los algoritmos de clasificación utilizados y las características extraídas de la señal, que sirven como entrada al clasificador.

2.1. Registros

Los registros MER fueron obtenidos por la Unidad de Neurocirugía del Hospital La Fe de Valencia durante el proceso de implante de los electrodos, y la utilización anónima de estos datos se incluye en la autorización global que hace el paciente para el acto quirúrgico.

Corresponden a 15 pacientes de Parkinson. Para la adquisición se utilizó un sistema MicroGuide de Alfa Omega y microelectrodos de 3 contactos (anterolateral, central y posteromedial), con una frecuencia de muestreo de 12 kHz. Para cada paciente se analizaron dos trayectorias de inserción del electrodo, una por cada hemisferio cerebral. Para cada trayectoria se realizó un barrido desde 7 mm anteriores hasta 4 mm posteriores a la posición objetivo, realizándose una adquisición cada 0,3 mm aproximadamente. Los registros fueron marcados por un experto; dichas marcas indican, para cada uno de los 3 contactos del electrodo (canales), la zona de registro para cada profundidad (TH, STN, SN), y cuál de ellos está mejor situado en la posición final (STN).

Para verificar el posicionamiento correcto, se realizaron al paciente maniobras de movimiento para comprobar el reclutamiento (DRV, *driving*), correspondiente a la respuesta neuronal a la movilización articular, y que produce un incremento de actividad y un aumento de la frecuencia de disparo. Además, se adquirió una imagen TAC-RX, que superpuesta a la imagen MRI (*Resonance Magnetic Imaging*) obtenida previamente al acto quirúrgico permite obtener una representación del electrodo sobre las estructuras anatómicas. La figura 1 muestra un ejemplo de esta superposición de imágenes.

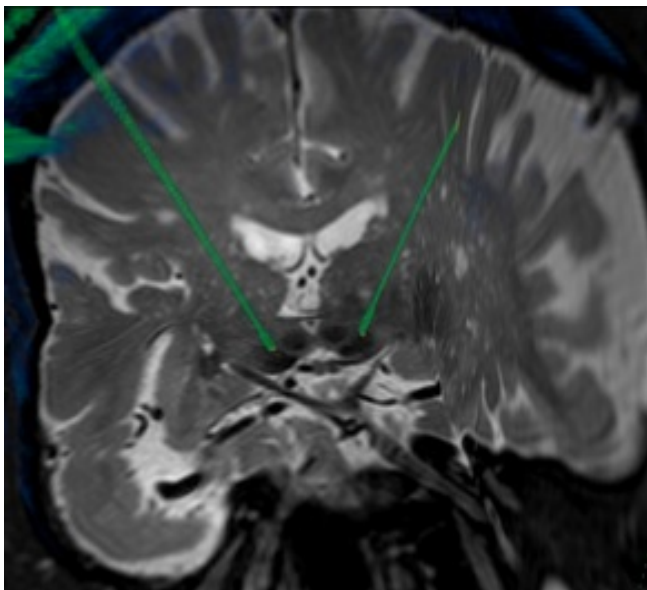


Figura 1. Ejemplo de superposición de la imagen TAC-RX y la de RMI, en la que se pueden apreciar los electrodos (en verde) sobre las estructuras anatómicas para validar la posición óptima de inserción

2.2. Procesado

Los registros fueron procesados en segmentos de 4 segundos, con solapamiento del 50%. Se analizó la validez de cada segmento y se desecharon aquellos con bajo o nulo nivel de señal, o presencia de artefactos [7]. Para los segmentos válidos (TH: 4182, STN: 6618, SN: 2846) se calcularon 6 parámetros, los tres primeros propuestos para este estudio y los restantes planteados en otros estudios [6]:

- Basal: valor de amplitud basal, moda de la envolvente de la transformada de Hilbert [7] de la señal.
- EN_beta: energía normalizada en banda β (13-35Hz), respecto de la energía en banda de interés (1-45Hz).
- FD_beta: frecuencia dominante en banda beta (13-35Hz).
- NRMS: valor de amplitud para cada canal y segmento (RMS normalizado respecto valor basal).
- MED_beta: energía media en banda β (13-35Hz), respecto de energía en banda de interés ampliada (2-200Hz).
- MAX_beta: energía máxima en banda β (f_{β} : 13-35Hz), respecto de energía en banda de interés ampliada (2-200Hz).

2.3. Análisis espectral

Se ha utilizado el método *multitaper* (MTM) propuesto por Thomson para la estimación de la densidad espectral de potencia (PSD) de la serie temporal [8]. Se tomó un valor de 4 para el producto tiempo-ancho de banda, con lo que se obtiene una resolución de 2Hz.

2.4. Clasificación

Se ha utilizado el entorno Matlab y la librería PRTools [9] para realizar el entrenamiento y test de diferentes algoritmos de clasificación. Para ello, se han seleccionado tanto clasificadores paramétricos como no paramétricos:

- LDC: Clasificador Bayesiano lineal, asume densidades normales con iguales matrices de covarianza.
- QDC: Clasificador Bayesiano cuadrático, los límites de la fusión de decisión están formados por hipersuperficies cuadráticas en el espacio N-dimensional.
- KNNC: Clasificador *k-nearest neighbor*, basado en la estimación de la función de densidad de probabilidad o directamente de la probabilidad, sin hacer ninguna suposición acerca de las variables predictoras.
- PARZENC: Clasificador basado en densidad de Parzen. Consiste básicamente en variaciones de la aproximación del histograma de una función de densidad de probabilidad desconocida.
- SVMC: Clasificador basado en máquinas de soporte vectorial. Proyecta las características en un espacio multidimensional para encontrar un hiperplano que maximice el margen entre dos clases diferentes.

En relación al clasificador SVMC, además del kernel lineal se han utilizado otras funciones kernel, que proyectan la información a un espacio de características de mayor dimensión aumentando la capacidad de la máquina de aprendizaje lineal. Las diferentes funciones kernel utilizadas son:

- SVM_POL: Funciones kernel polinómicas, siendo n el grado del polinomio.

- SVM_EXP: Funciones kernel exponenciales, siendo p el parámetro de proximidad.
- SVM_DST: Funciones kernel basada en la distancia, siendo p el parámetro de proximidad.

Se han utilizado siete clasificadores diferentes, incluidas tres diferentes versiones del SVM. Cada vector de características contiene una marca de experto designando la zona. Las posibles zonas son:

- 0 : pre-STN (Talamo)
- 1 : STN (Núcleo Subtalámico)
- 2 : post-STN (Sustancia Negra)

Para el entrenamiento y validación de los diferentes clasificadores se ha utilizado una validación cruzada n-fold, con n=10. De esta forma, los datos de la muestra se dividen en 10 subconjuntos, uno de ellos, el 10% de vectores del dataset, se utiliza para test y los 9 conjuntos restantes, el 90% de vectores del dataset, se utiliza para entrenamiento. El proceso de validación se repite 10 veces, utilizando sucesivamente y por turno cada uno de los 10 conjuntos para validación. Finalmente se promedian los resultados de cada uno de los conjuntos de test para obtener el ratios totales de error de clasificación.

3. Resultados

Este estudio se ha realizado sobre la base de datos DBS obtenida por la Unidad de Neurocirugía del hospital La Fe de Valencia. Tras el preprocesado, se realizó la extracción de seis características, sección 2.2, de las cuales cuatro se centran en la caracterización de la actividad de la señal en banda β .

Los ratios de error en clasificación (*classification error rate*, definido como la proporción de falsos resultados, tanto falsos positivos como falsos negativos, entre el total de casos examinados) varían para cada clasificador. En la tabla 1 se representan los ratios de error para la clasificación mediante máquinas de soporte vectorial utilizando *kernel* polinómico de diferente orden. En este caso el mejor resultado se da para un kernel polinómico de grado n=6, siendo el ratio de error 32,8%.

La tabla 2 presenta ratios de error para clasificación SVM utilizando un *kernel* de función exponencial con diferentes valores para el parámetro de proximidad, p. El mejor ratio de error de clasificación se da para p=4, obteniéndose un valor de 25,9%, mejor que el obtenido para *kernels* polinómicos.

SVM_POL	Grado del polinomio						
	1	2	3	4	5	6	7
Error Ratio (%)	35,4	35,1	33,6	33,6	33,6	32,8	33,6

Tabla 1. Ratios de error obtenidas para una máquina de soporte vectorial con función kernel polinómica y diferentes grados del polinomio.

Los resultados de la función *kernel* basada en la distancia se muestran en la tabla 3, para diferentes valores del

parámetro de proximidad p. El mejor valor de ratio de error es de 26,9%, para p=3,5. En este caso, el resultado es similar al ofrecido por la clasificación SVM mediante kernel exponencial.

SVM_EXP	p (para función kernel exponencial)						
	0,1	1	2	3	4	5	6
Error Ratio (%)	28,2	31,3	34,6	26,4	25,9	35,3	35,3

Tabla 2. Ratios de error obtenidas para una máquina de soporte vectorial con función kernel exponencial y diferentes valores del parámetro de proximidad, p.

SVM_DST	p (para función kernel distance)						
	3,0	3,2	3,4	3,5	3,6	3,8	4,0
Error Ratio (%)	35,4	27,7	28,2	26,9	28,5	27,8	31,8

Tabla 3. Ratios de error obtenidas para una máquina de soporte vectorial con función kernel distance y diferentes valores del parámetro de proximidad, p.

Estos resultados pueden compararse con otros clasificadores, tanto paramétricos como no paramétricos, en la tabla 4. En ella puede observarse, como era de esperar, que el clasificador Bayesiano cuadrático arroja mejores ratios de error que el lineal, un 6,6% más. Los mejores resultados de las máquinas de soporte vectorial también se presentan en la tabla para facilitar la comparación. El clasificador basado en la densidad de Parzen, ofrece uno de los peores ratios de error, similar al LQC.

El mejor resultado lo detenta el clasificador KNNC, con un 25,7%, utilizando k=3, aunque dicho resultado es muy similar al ofrecido por el clasificador SVM con función *kernel* exponencial.

	Error ratio (%)
LDC	35,6
QDC	29,0
KNNC	25,7
PARZENC	35,4
SVMC_POL (n=6)	32,8
SVMC_EXP (p=4)	25,9
SVMC_DST (p=3,5)	26,9

Tabla 4. Ratios de error obtenidas para diferentes clasificadores analizados.

4. Discusión

Se ha obtenido un resultado prácticamente idéntico mediante los clasificadores KNNC, con una ratio de error de clasificación del 25,7%, y SVM_EXP (máquina de soporte vectorial con función kernel exponencial), con un 25,9%. Sólo existe una pequeña diferencia del 0,2% de ratio de error entre ambos.

Un mejor resultado del 25,7% de ratio de error de clasificación (ratio de acierto del 74,3%) puede, en principio, parecer bajo, sin embargo mejora los resultados

obtenidos por Chaovaitwongse et al. [6], que obtenían una ratio de acierto del 50,2% utilizando tanto árboles de clasificación como KNN, con vectores de características basadas en frecuencia. Dicho análisis se realizó utilizando una extracción de características esencialmente de la información frecuencial. En dicho caso se utilizaron ventanas de la señal temporal para obtener las componentes frecuenciales de la transformada discreta de Fourier (DFT) y, dado que la relación de cambios en los componentes de frecuencia y sus frecuencias vecinas es un indicador útil de las actividades cerebrales, la transformación en frecuencia de ventanas sucesivas fue manejada como series temporales. Para medir la similitud de series consecutivas utilizaron una clasificación KNN de los datos MER aplicando una medida diferente de la distancia Euclídea, que es la medida más utilizada, utilizando el DTW (Dynamic Time Warping) para encontrar el mejor alineamiento posible entre las dos series, obteniendo así una clasificación KNN basada en DTW.

Como puede verse, la reducción de la ratio de error al utilizar características extraídas exclusivamente de la actividad de la banda β es indicativa de la importancia de la información frecuencial de dicha banda, superior a la de la utilización de la información frecuencial del espectro completo [6], en la localización de STN. Este hecho confirma las conclusiones de Zaidel et al. [5] sobre la importancia, también en detección de STN, de la actividad en banda β en gran parte de los pacientes de Parkinson, lo cual consolida esta banda como fuente importante de características frecuenciales a tener en cuenta en el proceso de clasificación.

No obstante, dado que la ratio de error obtenida debería reducirse, es aconsejable ampliar el abanico de características al dominio temporal, dominio en el que también se han obtenido resultados interesantes en otros trabajos [6] [8] [9].

5. Conclusiones

La utilización de características frecuenciales procedentes de la actividad de la señal en banda β proporcionan mejores resultados de localización del núcleo subtalámico (STN) que las características frecuenciales obtenidas del espectro completo de la señal obtenidas en otros trabajos de la bibliografía. Dicha mejora se refleja en la reducción de los ratios de error de clasificación, utilizando señales MER obtenidas durante cirugía para la aplicación de DBS. Esto subraya la importancia de la información de la banda β en la recomendación de la localización de la posición óptima del macroelectrodo activo para la estimulación DBS. Así, las características estudiadas se proponen como información frecuencial importante a tener en cuenta como entrada al algoritmo de clasificación en el proceso de detección.

Como trabajo futuro se prevé estudiar la sinergia de las características propuestas con otras del dominio temporal con el objeto de mejorar los resultados de la clasificación y, así, la localización del STN y la efectividad del

tratamiento de estimulación DBS en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado dentro del proyecto “Sistema Integral de Soporte Analítico en la cirugía y seguimiento postoperatorio del Parkinson mediante Estimulación Cerebral Profunda” del programa VLC-BIOMED 2015 Subprograma B, "02-Parkinson-2015-B". VLC/CAMPUS, Valencia International Campus of Excellence, financiado por el programa Campus de Excelencia Internacional del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte.

Referencias

- [1] J. Guerrero-Martínez, A. Rosado-Muñoz, M. Bataller-Mompean, J. Francés-Villora, V. Teruel, A. Cervera-Ferri, J. Martínez-Ricós, A. Gutiérrez, i I. Martínez-Torres, «Characterization of Microelectrode Records in Deep Brain Stimulation Applied to Parkinson's Disease Patients», en *VI Latin American Congress on Biomedical Engineering CLAIB 2014, Paraná, Argentina 29, 30 & 31 October 2014*, A. Braidot i A. Hadad, Ed. Springer International Publishing, 2015, p. 647-650.
- [2] P. Gemmar, O. Gronz, T. Henrichs, i F. Hertel, «Advanced Methods for Target Navigation using Microelectrode Recordings in Stereotactic Neurosurgery for Deep Brain Stimulation», en *21st IEEE International Symposium on Computer-Based Medical Systems, 2008. CBMS '08, 2008*, p. 99-104.
- [3] W.-Y. Chuang, K.-Y. Young, P. C. P. Chao, S.-T. Tsai, i S.-Y. Chen, «Locating Optimal Electrodes Placement via Microelectrode Recording in General Anesthetic Patients During Deep Brain Stimulation», en *2012 International Conference on Biomedical Engineering and Biotechnology (iCBEB)*, 2012, p. 1048-1051.
- [4] S. Wong, G. H. Baltuch, J. L. Jaggi, i S. F. Danish, «Functional localization and visualization of the subthalamic nucleus from microelectrode recordings acquired during DBS surgery with unsupervised machine learning», *J. Neural Eng.*, vol. 6, núm. 2, p. 26006, abr. 2009.
- [5] A. Zaidel, A. Spivak, B. Grieb, H. Bergman, i Z. Israel, «Subthalamic span of β oscillations predicts deep brain stimulation efficacy for patients with Parkinson's disease», *Brain*, vol. 133, núm. 7, p. 2007-2021, gen. 2010.
- [6] W. Chaovaitwongse, Y. Jeong, M.-K. Jeong, S. Danish, i S. Wong, «Pattern Recognition Approaches for Identifying Subcortical Targets during Deep Brain Stimulation Surgery», *IEEE Intell. Syst.*, vol. 26, núm. 5, p. 54-63, 2011.
- [7] K. Dolan, H. C. F. Martens, P. R. Schuurman, i L. J. Bour, «Automatic noise-level detection for extra-cellular microelectrode recordings», *Med. Biol. Eng. Comput.*, vol. 47, núm. 7, p. 791-800, jul. 2009.
- [8] B. Babadi i E. N. Brown, «A Review of Multitaper Spectral Analysis», *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 61, núm. 5, p. 1555-1564, maig 2014.
- [9] R. P. W. Duin, P. Juszczak, P. Paclik, E. Pekalska, D. De Ridder, D. M. J. Tax, i S. Verzakov, «A matlab toolbox for pattern recognition», *PRTools Version*, vol. 3, 2000.

Análisis de la influencia de la amplitud de la fibrilación ventricular en los predictores del éxito de la desfibrilación

B. Chicote Gutiérrez¹, U. Irusta Zarandona¹, E. Aramendi Ecenarro¹, E. Alonso González¹,
I. Isasi Liñero¹, G. Galdos Valdecantos², M. Olabarria Ibarreche²

¹ Ingeniería de Comunicaciones, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Bilbao, España,
{beatriz.chicote,unai.irusta,elisabete.aramendi,erik.alonso}@ehu.eus

² Emergentziak-Osakidetza, Servicio Vasco de Salud (Osakidetza), Bilbao, España,
{guillermo.galdosvaldecantos, mikel.olabarriaibarreche}@osakidetza.eus

Resumen

El objetivo de este trabajo es explicar porqué la combinación de los predictores del éxito de la desfibrilación (PED) no mejora significativamente su predictibilidad. Se han analizado 419 intentos de desfibrilación y se han calculado 15 parámetros PED a partir de la forma de onda de la fibrilación ventricular (FV). Se ha analizado su poder de predicción en base a la curva ROC, y se han combinado en un clasificador multiparamétrico. Los parámetros dependientes de la amplitud presentaron AUCs altos (>0.8), y combinar varios parámetros mejoró la tasa de error equilibrada (BER) en menos de 2.5 puntos. A través de un análisis de correlación se muestra que la dependencia con la amplitud de la FV explica la capacidad de predicción de los parámetros, y que combinar parámetros PED que discriminan en base a esa dependencia no mejora significativamente la predicción del éxito de desfibrilación.

1. Introducción

En escenarios de parada cardiaca extrahospitalaria (PCEH) donde el factor tiempo es determinante, la supervivencia del paciente radica en dos elementos importantes, la adecuada resucitación cardiopulmonar (RCP) y la rápida desfibrilación eléctrica. Con cada interrupción innecesaria de las compresiones torácicas (CT) la probabilidad de supervivencia se reduce, al igual que con cada intento de desfibrilación fallido, debido a los daños que puede producir en el miocardio. Por lo tanto, disponer de herramientas que predigan el resultado de la desfibrilación, indicando así cuándo continuar haciendo RCP o cuándo desfibrilar, permitiría suministrar la terapia eléctrica al paciente únicamente en caso de alta probabilidad de éxito en la desfibrilación, aumentando así sus posibilidades de supervivencia.

Existen numerosos parámetros predictores del éxito de la desfibrilación (PED). Especialmente importantes son aquellos basados en el análisis ECG de la forma de onda de la fibrilación ventricular (FV), ya que constituyen métodos no invasivos que emplean exclusivamente las señales propias de los desfibriladores. Estos parámetros han sido analizados por separado como predictores del resultado de la desfibrilación, uno de los más típicos es el área del espectro de amplitud (AMSA), que se define como la suma de las amplitudes espectrales de la señal FV ponderada en frecuencia [1]. Con el objetivo de obtener un mejor predictor, se han realizado estudios combinando dos o más parámetros para así mejorar la capacidad de predicción del resultado de la desfibrilación.

Aunque todavía existe cierta discusión [2] [3] sobre si el combinar más de un parámetro mejora la capacidad predictiva respecto al uso de un único parámetro.

Numerosos parámetros PED se basan total o parcialmente en la amplitud de la señal FV, ya que es bien conocido que en la PCEH la amplitud de la FV aporta información sobre el estado del miocardio del paciente [4]. La hipótesis principal del presente trabajo es que la capacidad de muchos de los parámetros PED propuestos durante la última década se debe a que dependen directamente de la amplitud de la FV. Así, los complejos cálculos y transformaciones de la señal FV empleados en el cálculo de dichos parámetros aportan poca información adicional para la PED. Esto explicaría las recientes aportaciones que confirman que la combinación de múltiples parámetros no mejora significativamente la predicción del éxito de la desfibrilación [2].

2. Métodos

2.1. Recopilación y anotación de datos

Para este estudio se han empleado 1009 casos de PCEH atendidos por el servicio de Emergencias del Servicio Vasco de Salud (Emergentziak-Osakidetza), entre Enero del 2013 y Junio del 2015. El servicio de emergencias, es un sistema de dos niveles en el que frecuentemente el soporte vital básico (SVB) es el primero en acudir al escenario. Las ambulancias del SVB están equipadas con desfibriladores externos automáticos (DEA). En este trabajo se han empleado registros obtenidos de los siguientes DEA: LP1000 (Physio-Control), AED Pro (Zoll) y FR2 (Philips). La resolución y frecuencia de muestreo de estos dispositivos es: 4.8/4.8/2.5 μ V y 125/250/200 Hz, respectivamente. Las señales y los mensajes de cada uno de los dispositivos fueron extraídos utilizando las herramientas propias de cada fabricante y posteriormente se convirtieron a un formato común de Matlab a 250 Hz.

Utilizando los mensajes de los desfibriladores, se identificaron los instantes de las desfibrilaciones y se extrajeron 30 segundos pre-shock de la señal ECG para su análisis y 70 segundos post-shock para anotar el resultado del shock. La Figura 1 muestra dos ejemplos en los que se observa la señal FV, la desfibrilación y el ritmo post-desfibrilación.

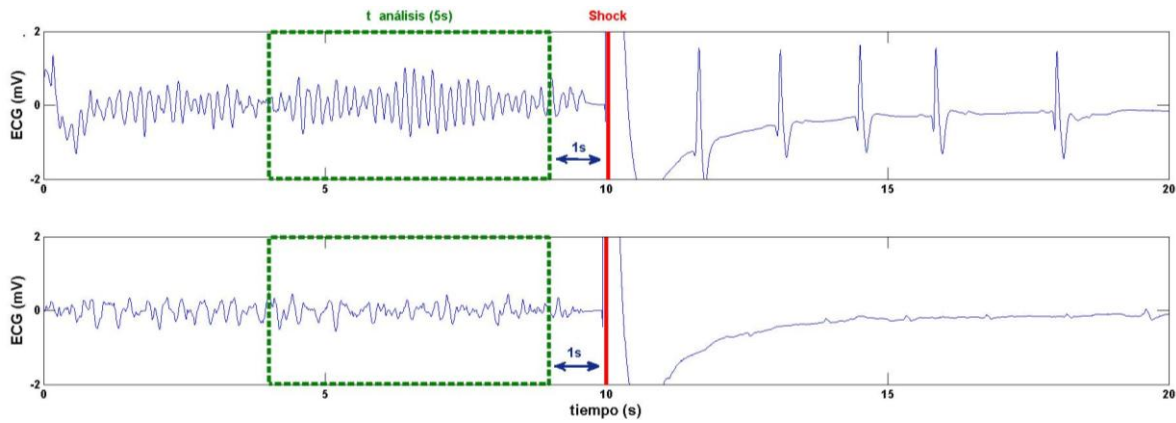


Figura 1. Ejemplos de señales ECG correspondientes a una desfibrilación exitosa (figura superior) y desfibrilación no exitosa (figura inferior). La señal FV de figura superior presenta mayor amplitud con complejos QRS tras la desfibrilación. Por el contrario la FV de la figura inferior, con menor amplitud resulta en una asistolia tras la desfibrilación.

Se descartaron aquellos casos en los que no había señal, el análisis se había realizado durante CT, era imposible anotar el ritmo resultante o había ruido antes de la descarga. Se definió como shock exitoso aquel cuyo ritmo post-shock presentaba complejos QRS sostenidos (frecuencia > 30 min⁻¹) en los primeros 60 segundos [1]. Finalmente se obtuvo una base de datos con 419 shocks de 163 pacientes, de los cuales 107 (65 pacientes) fueron exitosos y 312 (125 pacientes) no exitosos.

2.2. Parámetros predictores

Para el cálculo de los parámetros se emplearon segmentos de 5 segundos de la señal FV dejando un margen de 1 segundo antes de la desfibrilación, tal y como se muestra en la Figura 1. A continuación se preprocesaron los segmentos aplicándoles un filtro elíptico pasobanda de orden ocho con 1dB de rizado de banda de paso, una atenuación en la banda de rechazo de 30 dB y una banda de 0.5-30 Hz, típica de los DEAs, que elimina el ruido de alta frecuencia y las oscilaciones de línea base.

Para este estudio se utilizaron 15 parámetros (Ver Tabla 1), los cuales han sido utilizados como predictores del resultado del shock en diversos estudios [5 -7]. En forma abreviada un parámetro es una transformación $T\{\cdot\}$ que aplicada a la señal FV, $x(n)$, nos devuelve un valor. Así la dependencia de dichos parámetros con la amplitud puede establecerse mediante el siguiente modelo:

donde el coeficiente α indica el grado de homogeneidad, que se muestra para cada parámetro en la Tabla 1. Por lo tanto, y para eliminar la influencia de la amplitud de la FV, los análisis descritos en este trabajo se realizan tanto para la señal FV, como para la señal FV normalizada en amplitud con respecto a su valor máximo.

2.3. Análisis

En este contexto se define sensibilidad (Se) como el porcentaje de desfibrilaciones exitosas correctamente clasificadas, y especificidad (Sp) el porcentaje de desfibrilaciones no exitosas correctamente clasificadas.

Parámetro	Ecuación	α
AR	$\max\{x(n)\} - \min\{x(n)\}$	1
PPA	$\frac{1}{L} \sum_{i=1}^L \max\{x_L(n)\} - \min\{x_L(n)\}$	1
MS	$\frac{f_s}{N} \sum_{i=1}^N x(n) - x(n-1) $	1
MdS	$f_s \cdot Md\{ x(n) - x(n-1) \}$	1
AMSA	$\sum_{j=1}^k A_j f_j$	1
PF	$\arg \max(S_x(f_j))$	0
CF	$\frac{\sum_{j=1}^k f_j S_x(f_j)}{\sum_{j=1}^k S_x(f_j)}$	0
ENRG	$\sum_{j=1}^k S_x(f_j)$	2
MP	$\max(S_x(f_j))$	2
CP	$\frac{\sum_{j=1}^k S_x^2(f_j)}{\sum_{j=1}^k S_x(f_j)}$	2
PSA	$\sum_{j=1}^k S_x(f_j) f_j$	2
SFM	$\frac{e^{\sum_{j=1}^k \ln S_x(f_j)/k}}{e^{\sum_{j=1}^k S_x(f_j)/k}}$	0
MSI	$\ell(n) = \sqrt{(x(n) - x(n-1))^2 + (x(n+1) - x(n))^2}$	
	$f_s \cdot Md\{\ell(n)\}$	1
SignInt	$\sum_{n=1}^N x(n) $	1
LAC	$\log_{10}(\sum_{k=1}^{0.5f_s} R_x(n))$	2*

Tabla 1. Parámetros PED. Md denota mediana, f_s amplitud espectral, densidad espectral de potencia y autocorrelación.

Así, la evaluación de la capacidad predictiva de los Característica Operativa del Receptor (ROC), en el que el área bajo la curva (AUC) proporciona una medida global de dicha capacidad predictiva. A su vez, se evaluaron sobre la curva ROC dos puntos significativos, el valor de Se para una Sp del 90% y el valor de Sp para una Se del 90%. Al realizar el análisis tanto para la FV como para la

FV normalizada puede establecerse el grado en el que la dependencia de los parámetros con la amplitud determina su poder predictivo.

A continuación, se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson para las 120 combinaciones de parámetros, realizando así un análisis del grado de correlación existente entre cada pareja de parámetros, y de la influencia de la amplitud de la FV en las mismas. Se estableció que la correlación era estadísticamente significativa cuando $p < 0.05$ [2].

Finalmente, se implementó un clasificador binario multiparamétrico basado en regresión logística identificando los conjuntos de parámetros óptimos para la discriminación. Se realizó una búsqueda exhaustiva de conjuntos de parámetros, empleando para ello un esquema de validación cruzada dejando un paciente fuera, y tomando como función objetivo minimizar la tasa de error equilibrada (BER):

3. Resultados

La Tabla 2 muestra los resultados del análisis de la curva ROC de los 15 parámetros calculados a partir de la señal FV y la señal FV normalizada, en función de su AUC, Se para una Sp del 90% y Sp para una Se del 90%.

Tal y como se observa en dicha tabla, los parámetros dependientes de la amplitud ($\alpha \neq 0$, en Tabla 1) presentan AUCs mayores, destacando: PPA, MS, MdS, AMSA, PSA y MSI con un AUC superior a 0.81. Sin embargo, al eliminar la dependencia con la amplitud mediante la normalización de la FV se observa que los valores de AUC de dichos parámetros disminuyen signifi-

Parámetro	FV sin normalizar			FV Normalizada		
	AUC	Se	Sp	AUC	Se	Sp
AR	.790	41.1	52.6	.510	5.6	9.0
PPA	.814	42.1	53.5	.617	23.4	14.7
MS	.824	47.7	53.8	.595	19.6	14.7
MdS	.826	49.5	55.4	.604	21.5	13.5
AMSA	.814	53.3	53.2	.527	14.0	7.1
PF	.687	25.2	27.6	.687	25.2	27.6
CF	.639	18.7	20.2	.639	18.7	20.2
ENRG	.782	38.3	53.8	.494	6.5	13.1
MP	.735	28.0	42.6	.503	8.4	15.1
CP	.732	27.1	42.9	.516	8.4	12.5
PSA	.816	43.9	52.6	.616	21.5	22.4
SFM	.594	19.6	16.0	.594	19.6	16.0
MSI	.827	48.6	54.8	.600	20.6	13.8
SignInt	.777	38.3	52.2	.516	10.3	11.9
LAC	.738	32.7	42.3	.525	10.3	15.1

Tabla 2. Análisis ROC de los parámetros usando segmentos de 5 segundos para FV y FV normalizada. Evaluando en términos de AUC, Se (Sp=90%) y Sp (Se=90%).

cativamente, situándose por debajo de 0.62 en todos los casos. Los parámetros no dependientes de la amplitud ($\alpha = 0$, en Tabla 1) presentan en general AUCs bajos, por debajo de 0.69 que es el AUC obtenido para la frecuencia dominante (PF). Estos parámetros no se ven afectados por la normalización de amplitud, tal y como se muestra en la Tabla 1.

La Tabla 3 muestra los resultados obtenidos del cálculo del coeficiente de correlación de Pearson para FV sin normalizar. Los parámetros dependientes de la amplitud presentan un alto coeficiente de correlación con $r > 0.78$ y $p < 0.01$, relación que es más fuerte entre aquellos parámetros que tienen el mismo grado de homogeneidad ($\alpha = 1$ o $\alpha = 0$). Sin embargo, las correlaciones entre los parámetros dependientes de la amplitud y los no dependientes son cercanas a cero y no son estadísticamente significativas.

La Figura 2 muestra el BER para la mejor combinación de parámetros del clasificador. Los mejores resultados se obtienen de combinar 5 (5 a 9) parámetros, sin embargo estos clasificadores mejoran el BER en menos de 2.5 puntos respecto a usar un único parámetro.

4. Conclusión

En los últimos 15 años se han propuesto numerosos parámetros para la predicción del éxito de la desfibrilación, incluyendo el análisis de la amplitud (AR, PPA, SigInt) [5], pendiente (MS, MdS) [5] [6] el análisis espectral (PF, CF, MP, CP, PSA, AMSA) [1] [6] o derivados de dinámica no lineal (MSI, diagramas de Poincaré) [2]. Sin embargo, y aunque los abordajes son aparentemente muy distintos el factor fundamental que explica el poder de predicción de dichos parámetros es su dependencia con la amplitud.

En efecto, cuando la dependencia funcional con la amplitud de los parámetros es la misma (Ecuación (1)), los coeficientes de correlación son altos. Y a su vez es la amplitud el factor determinante en el poder de predicción de dichos parámetros, ya que tras normalizar la amplitud de la FV el AUC de los mismos disminuye entre 0.2-0.3, pasando de valores altos por encima de 0.8 a valores entre 0.5-0.6. Especialmente significativo es el caso de AMSA [1], el predictor más extensamente estudiado en la literatura, cuyo AUC pasa de 0.814 a 0.527 tras normalizar la amplitud de la FV. Así, abordajes innovadores recientemente propuestos, como el parámetro MSI que admite una interpretación en términos de diagramas de Poincaré, predicen esencialmente el éxito de la desfibrilación por ser dependientes de la amplitud.

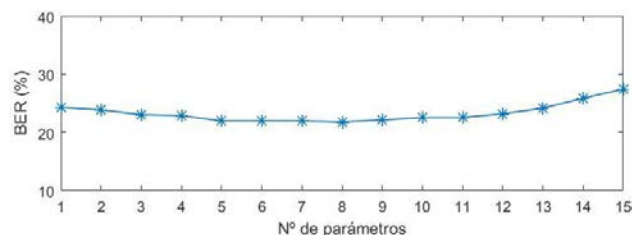


Figura 2. BER mínimo (en %) para la mejor combinación de parámetros PED en función del número de parámetros.

	PPA	Ms	MdS	AMSA	PF	CF	ENRG	MP	CP	PSA	SFM	MSI	SignInt	LAC
AR	0.91**	0.86**	0.84**	0.83**	0.20**	0.06	0.86**	0.67**	0.61**	0.87**	-0.35**	0.84**	0.94**	0.86**
PPA		0.98**	0.97**	0.93**	0.41**	0.30**	0.81**	0.63**	0.57**	0.90**	-0.36**	0.97**	0.92**	0.83**
MS			0.99**	0.96**	0.50**	0.44**	0.74**	0.55**	0.48**	0.87**	-0.28**	0.99**	0.85**	0.75**
MdS				0.95**	0.51**	0.45**	0.73**	0.56**	0.49**	0.86**	-0.28**	1.00**	0.85**	0.74**
AMSA					0.50**	0.49**	0.67**	0.43**	0.37**	0.81**	-0.18**	0.95**	0.78**	0.69**
PF						0.79**	0.09	0.02	0.00	0.26**	-0.12*	0.51**	0.16**	0.12*
CF							-0.05	-0.12*	-0.13*	0.16**	0.13*	0.45**	-0.01	-0.11*
ENRG								0.90**	0.86**	0.95**	-0.36**	0.73**	0.91**	0.73**
MP									0.99**	0.79**	-0.35**	0.56**	0.78**	0.60**
CP										0.73**	-0.32**	0.49**	0.72**	0.54**
PSA											-0.35**	0.86**	0.89**	0.70**
SFM												-0.28**	-0.40**	-0.41**
MSI													0.84**	0.74**
SignInt														0.92**

Tabla 3. Coeficientes de correlación entre los 15 parámetros analizados. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$

En este trabajo, además, se ha comprobado que cuando se combinan varios parámetros PED, la mejora en desempeño de los clasificadores es pequeña. Efectivamente, tras una búsqueda exhaustiva de la combinación óptima de parámetros, el BER solo se redujo en 2.5 puntos (hasta el 22%) respecto de emplear el mejor parámetro PED.

Este estudio explica una de las razones principales por las que la combinación de parámetros no ha mejorado significativamente los métodos de PED [2]. En un futuro, deberían incorporarse nuevos parámetros independientes de la amplitud, y posiblemente variables clínicas adicionales de la PCEH para mejorar la predicción del éxito de desfibrilación.

Agradecimientos

Este trabajo ha recibido apoyo económico del Ministerio de Economía y Competitividad Español (TEC2012-31928) y conjuntamente del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) a través del proyecto TEC2015-64678, y por la Universidad del País Vasco a través de la beca predoctoral PIF15/190 y la unidad de investigación UFI11/16.

Referencias

- [1] G. Ristagno, T. Mauri, G. Cesana, Y. Li, A. Finzi, F. Fumagalli, G. Rossi, N. Grieco, M. Migliori, A. Andreassi, R. Latini, C. Fornari y A. Pesenti, «Amplitude Spectrum Area to Guide Defibrillation,» *Resuscitation Science*, vol. 131, pp. 478-487, 2015.
- [2] M. He, Y. Gong, Y. Li, T. Mauri, F. Fumagalli, M. Bozzola, G. Cesana, R. Latini, A. Pesenti y G. Ristagno, «Combining multiple ECG features does

not improve prediction of defibrillation outcome compared to single features in a large population of out-of-hospital cardiac arrests,» *Critical Care*, vol. 19, n° 1, p. 1, 2015.

- [3] A. Howe, O. J. Escalona, R. Di Maio, B. Massot, N. A. Cromie, K. M. Darraghe, J. Adgey and D. J. McEneaney, "A support vector machine for predicting defibrillation outcomes from," *Resuscitation*, vol. 85, pp. 343-349, 2014.
- [4] W. Weaver, L. Cobb, D. Dennis and e. a. A. I. Med, "Amplitude of Ventricular Fibrillation Waveform and Outcome After Cardiac Arrest," *Annals of Emergency Medicine*, vol. 102, no. 1, pp. 53-55, 1985.
- [5] R. Firoozabadi, M. Nakagawa, E. D. Helfenbein y S. Babaeizadeh, «Predicting defibrillation success in sudden cardiac arrest patients,» *Electrocardiology*, vol. 46, n° 6, pp. 473-479, 2013.
- [6] A. Neurauter, T. Eftestol, J. Kramer-Johansen, B. Abella, K. Sunde, V. Wenzel, K. Lindner, J. Eilevstjonn, H. Myklebust, P. Steen and H. Strommenger, "Prediction of countershock success using single," *Resuscitation*, vol. 73, pp. 253-263, 2007.
- [7] H. Povoas, M. Weil, W. Tang, J. Bisera, K. Klouche and A. Barbatsis, "Predicting the success of defibrillation by electrocardiographic analysis," *Resuscitation*, vol. 53, no. 1, pp. 77-82, 2002.

Pulsecurity: descripción funcional, hardware y procesado de señal de un sistema de monitorización para la tercera edad

José Luis Rojo-Álvarez^{1,2}, Alejandro Escario-Méndez², Sergio Muñoz-Romero¹,
Javier Gimeno-Blanes³, Arcadi García-Alberola⁴, Tomás Llorente-Aguado²

¹Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones y Sistemas Telemáticos y de Computación, Universidad Rey Juan Carlos, Fuenlabrada, España, ({joseluis.rojo,sergio.munoz}@urjc.es)

²Pulsecurity, Madrid, (tomasllorente@yahoo.es, alejandro@escario.org)

³Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad Miguel Hernández, Elche, España, (fjavier.gimeno@goumh.umh.es)

⁴Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca de Murcia, Murcia, España, (arcadi@secardiologia.es)

Resumen

En nuestros días se están proponiendo un gran número de sistemas y dispositivos wearables para la monitorización, que por lo general se centran en aplicaciones relacionadas con individuos sanos, pero tienen un alcance más limitado en monitorización médica y del ámbito de la salud. Esto es debido posiblemente a dos factores, a saber, el coste de dichos dispositivos y la problemática en cuanto a detección de ritmos subyacentes anómalos y su discriminación del ruido fisiológico y de sensado. En el presente trabajo describimos Pulsecurity, un nuevo sistema de monitorización orientado a las necesidades específicas de la tercera edad, centrándonos en los módulos de análisis de ritmo cardíaco. En primer lugar se presenta una descripción funcional de nuestro sistema, así como su orientación y alcance. A continuación se describe el hardware desarrollado para tener una detección de señales fiable con un coste reducido, y posteriormente se presenta el subsistema de análisis digital de señales y sus capacidades para monitorización prolongada. Dos conjuntos de experimentos muestran primero la problemática asociada a la detección mediante dispositivos wearables frente al ritmo realmente subyacente utilizando el Holter como patrón oro, y a continuación las prestaciones alcanzadas por nuestro sistema de alta fiabilidad. Los resultados hasta la fecha indican que el sistema puede ofrecer posibilidades en la monitorización para escenarios relacionados con la salud y la medicina especializada.

1. Introducción

En la actualidad hay un gran número de sistemas y dispositivos wearables que están surgiendo para aplicaciones de monitorización, bien a través del ritmo cardíaco, bien a través de medidas de actividad, entre otras. Habitualmente estas aplicaciones están orientadas hacia individuos sanos, pero tienen un alcance más limitado en monitorización médica y del ámbito de la salud. Posiblemente esto sea debido a dos factores, a saber, el coste de dichos dispositivos y la problemática en cuanto a detección de ritmos subyacentes anómalos y su discriminación del ruido fisiológico y de

sensado [2, 4].

Por otra parte, las aplicaciones de teleasistencia requieren una atención especial hoy en día, dado el progresivo envejecimiento de la población [1]. Un apartado de especial relevancia es la inclusión y comunicación de estos sistemas con dispositivos wearables, que ha de considerar tanto aspectos ergonómicos como de usabilidad y comunicaciones, unidos al problema de la generación de falsas alertas cuando la detección de señal es ruidosa.

En este escenario surge Pulsecurity, un nuevo sistema de teleasistencia orientado a las necesidades específicas de la tercera edad. En el presente trabajo mostramos el último prototipo, que incluye un hardware innovador y un sistema de procesamiento robusto de las señales detectadas para obtener una estimación fiable y utilizable en teleasistencia del ritmo cardíaco de un sujeto monitorizado.

2. Teleasistencia en Nuestro Entorno

El envejecimiento sostenido de la de la población, y el aumento de la esperanza de vida, han generado una necesidad creciente de la atención a nuestros mayores donde desde hace ya cerca de 30 años [1]. Las administraciones públicas y algunas entidades del tercer sector han trabajado en la búsqueda de la herramientas que permitan que las personas puedan envejecer con dignidad y la atención adecuada. En esta dirección, la estrategia primigenia se centró en el establecimiento de espacios adecuados para la atención de las personas con elevado nivel de dependencia, siendo éstas las residencias, mientras que las personas que contaban con una mayor autonomía sanitaria podían estar al cuidado de sus familiares.

Este modelo a lo largo de estos últimos 50 años ha venido evolucionando principalmente por varias circunstancias:

- *Mejoras sistema sanitario y alimentación.* Por un lado, la mejora de los sistemas sanitarios y el aumento de la esperanza de vida han permitido que las personas puedan permanecer en espacios no asistenciales,



Figura 1. Esquema del sistema Pulsecurity.

aun con algún inicio de los deterioros de la salud propios de la edad.

- *Red familiar.* En segundo lugar, la completa entrada en el mercado laboral de ambos cónyuges, han generado una mayor dificultad para que las personas mayores puedan ser atendidas durante todo el día por sus familiares de siguiente generación.
- *Inversión de la pirámide de población.* Finalmente, el aumento del porcentaje de los mayores respecto al total de la población hace cada vez más difícil que el sistema social disponga de herramientas para una atención personalizada en el hogar con presencia física permanente de ayudantes y cuidadores.

Con todo ello, las administraciones, entidades sociales e industria de la atención social, ha encontrado en la tecnología un valioso aliado para permitir la atención domiciliaria con garantías, basado en el servicio de teleasistencia mediante la creación del botón del pánico normalmente ubicado en un colgante que los mayores llevan durante todo el día en su domicilio. Esta tecnología ha supuesto un gran paso adelante en la independencia de nuestros mayores.

3. Descripción Funcional

Pulsecurity es un servicio de asistencia para ancianos cuyas alertas se activan automáticamente en caso de peligro y desde cualquier ubicación. La actividad de Pulsecurity se basa en la prestación de un servicio de monitorización en tiempo real de la frecuencia cardíaca del usuario mediante una pulsera inteligente que es capaz de emitir de forma automática y sin intervención activa del usuario un mensaje de alarma en caso de emergencia desde cualquier ubicación, de manera que permitan activar las medidas de atención o seguridad necesarias, facilitando un mayor grado de bienestar al usuario y de tranquilidad a los familiares o cuidadores. La Figura 1 muestra el esquema de funcionamiento.

Pulsecurity es una solución móvil de monitorización de la frecuencia cardíaca que lee en tiempo real el ritmo cardíaco del usuario a través de una pulsera inteligente. Si dicho ritmo cardíaco varía de forma brusca determinando que el usuario puede encontrarse en un estado de riesgo o emer-



Figura 2. Prototipo de Pulsecurity: hardware de bajo coste.

gencia, emitirá de forma automática un mensaje de alarma al móvil de los contactos seleccionados sin intervención activa por parte del usuario. Por ello, la solución engloba 3 partes:

1. Un dispositivo físico como un reloj inteligente con conectividad inalámbrica y pulsímetro integrados, que recoge el pulso del usuario y envía las alarmas a los dispositivos móviles de los contactos identificados por el usuario.
2. Una aplicación software que recoge y analiza la información captada por el pulsímetro del reloj y proporcionará las alertas geopositionadas en caso de cambio brusco en las mediciones obtenidas.
3. Un panel de control web que permite al usuario o prescriptor del servicio introducir la información necesaria para su funcionamiento así como definir las alarmas (números de teléfono o dirección de email para comunicar las alertas o modificación de datos personales).

El prototipo hardware (ver Figura 2) se ha construido siguiendo principios de bajo coste y *open source*. Como sensor se ha utilizado un fototransistor a 529 y 497, con un led verde *atmega328p* a 16 MHz, y ADC de 10 bits integrado en el ATmega.

4. Procesado Digital y Resultados

En este apartado se muestran dos experimentos realizados para guiar el diseño y funcionamiento del hardware y el software de procesamiento digital de Pulsecurity.

4.1. Pruebas de Fiabilidad en Wearables

El primer experimento consistió en estudiar el alcance de la fiabilidad en la detección de los intervalos RR en disposi-

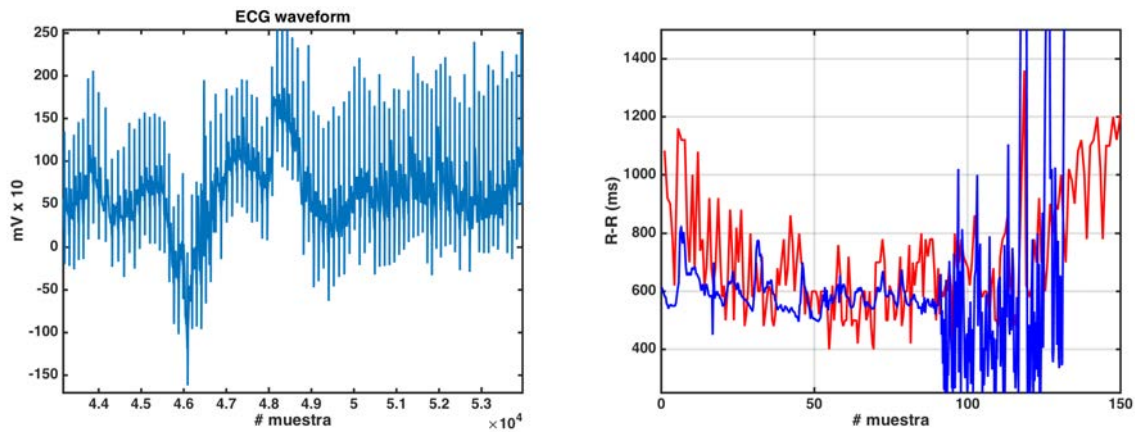


Figura 3. Pruebas comparativas de medidas del Holter cardíaco y un dispositivo comercial habitual para monitorización de ritmo cardíaco mediante pulsioximetría. Izquierda: señal de ECG en Holter sin preprocesar. Derecha: secuencia de intervalos RR detectados por el dispositivo wearable y por el Holter.

tivos *wearables* habituales. Para ello, se planteó un estudio con diseño sencillo, consistente en la medición simultánea del mismo sujeto mediante un dispositivo de prueba y un patrón oro.

Como dispositivo de prueba se utilizó un reloj (Samsung^R) con capacidad de monitorización del ritmo cardíaco mediante pulsioximetría (leds verdes), envío de señal a un servidor y posterior captura y representación de las señales registradas. El dispositivo no proporcionó la señal de pulsioximetría cruda, sino la señal RR (intervalos entre latidos, en ms), por lo que no se dispone habitualmente de información sobre el postprocesado realizado en este tipo de señales, que incluye la señal cruda (filtrado, detección de picos) y la señal de RR (postprocesamiento para cancelar mediante criterios heurísticos los intervalos RR posiblemente asociados a ruido). Como gold-standard se utilizó un dispositivo Holter (Soring Group^R), que proporciona la señal ECG subyacente, muestreada a 200 Hz y con la configuración convencional de electrodos, acceso a los criterios y algoritmos de procesamiento y etiquetado, y señal RR resultante.

La Figura 3 muestra los resultados de ambas señales RR resultantes, tras sincronizarlas en el eje de tiempos. Puede verse que la señal RR del Holter es más variable y rugosa, por lo que representaría un patrón subyacente de variabilidad que se corresponde con la señal fisiológica y, en este caso, está libre de ruido y de artefactos de postprocesado. Sin embargo, la señal del wearable muestra dos intervalos de tiempo. En un primer intervalo, la tendencia de la señal RR del Holter se sigue de forma aproximada, pero se pierde buena parte de la variabilidad. Esto es atribuible a la lógica y algorítmica heurística que los sistemas de *wellness* llevan implementado habitualmente, en las cuales el criterio de diseño es eliminar los intervalos RR por encima de un determinado umbral de variabilidad, lo cual proporciona seguridad frente a la cancelación del ruido, pero a costa de eliminar una cantidad notable de la variabilidad fisiológica y no patológica, y también a costa de eliminar a menudo variaciones de ciclo de naturaleza diagnóstica. En un segundo intervalo, el dispositivo en este caso pierde la

detección y no estima adecuadamente el ritmo cardíaco.

Este experimento es la motivación para utilizar nuestro propio detector y guiar su diseño, permitiendo el acceso a una señal de pulsioximetría subyacente sobre la cual realizar un postprocesado robusto, como se muestra a continuación.

4.2. Análisis Digital Robusto

La Figura 4 muestra el resultado del análisis realizado sobre nuestras señales de pulsioximetría, medidas durante varios minutos (unos 15) en la muñeca de uno de los autores, considerando tanto condiciones de reposo como movimientos suaves y bruscos de la muñeca y pérdida de contacto. El procesado realizado ha partido del convencional utilizado en señales cardíacas [3], adaptándolo a la naturaleza de nuestras señales. Como puede verse, la señal capturada puede tener huecos de sensado y muestreo, que han de resolverse mediante un proceso de interpolación. La figura muestra los espectros en la señal antes y después de interpolar, poniendo en evidencia que en este caso la interpolación cancela un buen número de componentes de intermodulación responsables de ruido de alta frecuencia y banda estrecha. Se muestra todo el espectro para ver el alcance de las intermodulaciones.

A continuación se realiza un filtrado adaptado correlacional en ventanas de longitud similar a un ciclo, que permite establecer una detección de posibles latidos, y un parámetro de calidad de la señal en ese latido. El histograma muestra que el parámetro de calidad, entre 0 y 1, ofrece una distribución estadística compacta, y que el valor de umbral puede establecerse mediante criterios claros sobre este histograma. Utilizando un umbral de 0.8, el último panel muestra la buena capacidad de detección de latidos correctos, y la capacidad añadida de identificar latidos durante los cuales la detección no es fiable, y por lo tanto no deberían considerarse para la generación de alertas o el diagnóstico basado en el ritmo cardíaco.

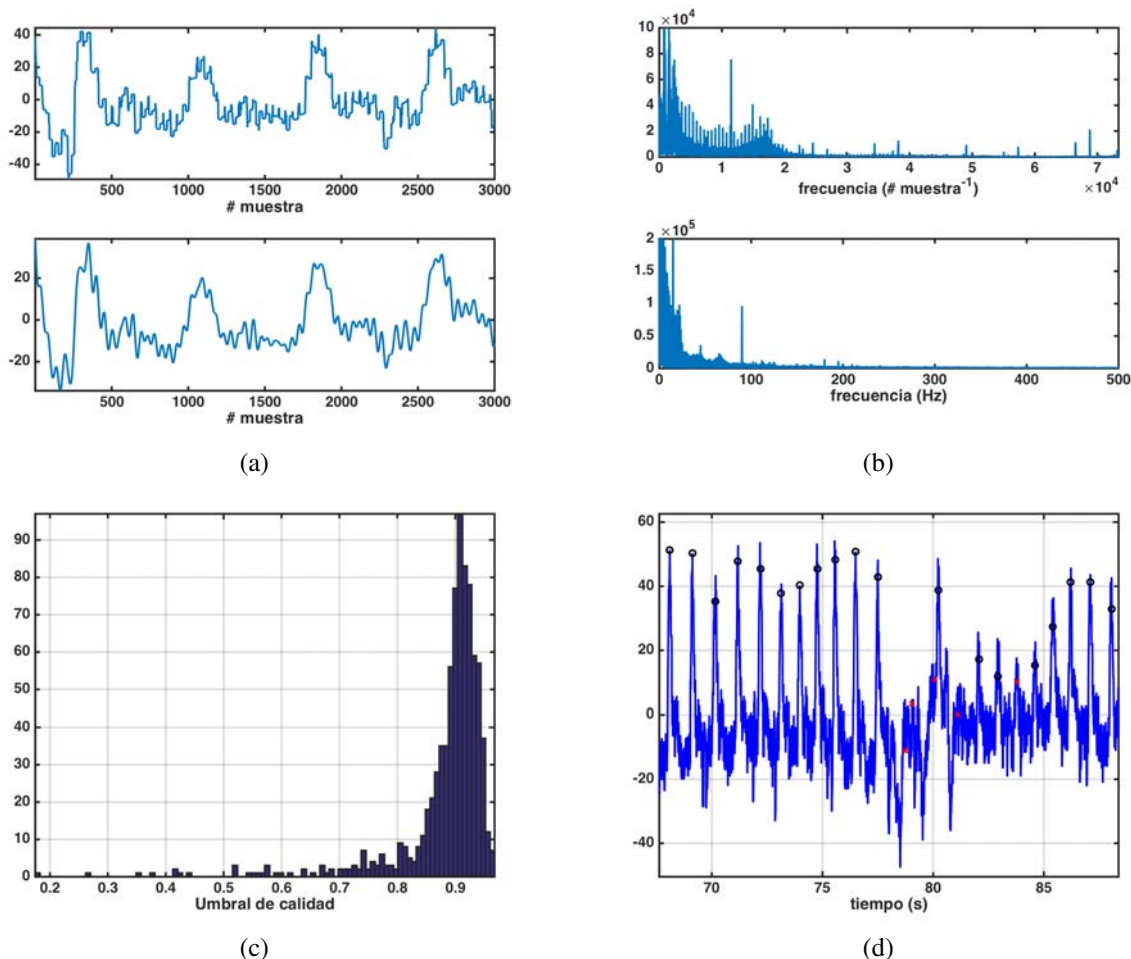


Figura 4. Reconstrucción y calidad digital en nuestro sistema: (a) señal cruda y reinterpolada; (b) espectros correspondientes; (c) histograma del parámetro de calidad; (d) detección de latidos válidos y no válidos.

5. Conclusiones

Pulsecurity es un proyecto innovador, con valor añadido que aporta un beneficio a la sociedad mejorando la calidad de vida y seguridad de las personas mayores.

Por otro lado, el seguimiento de constantes vitales de interés clínico remotamente, podrían aumentar aún más la autonomía de las personas en sus domicilios sin necesidad de una asistencia personal permanente. Es en este punto en el que un dispositivo como el que se presenta en este trabajo, junto con el adecuado procesado y la coordinación con el equipo sanitario, puede jugar un importante papel.

El desarrollo del Hardware así como el patrón de la app deberá estar en continuo proceso de investigación y desarrollo para mejorar de forma continua el servicio a sus clientes. Los resultados hasta la fecha muestran las ventajas del diseño hardware realizado y del procesado robusto, que permite tener garantías de que el diagnóstico o la valoración del ciclo cardíaco se va a realizar sobre señal fisiológica, y no sobre ruido o artefactos de detección, lo que permite mejorar la tasa de falsas alertas de forma notable con respecto a otras soluciones y abrir el paso hacia los requerimientos de los sistemas de monitorización en medicina y salud.

Agradecimientos

Nuestro agradecimiento especial a Patricia Pérez, por su impulso en el nacimiento y puesta en marcha del proyecto emprendedor Pulsecurity. Gracias al Dr. Domingo Pascual, del Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca de Murcia, y al D. Joaquín García Estañ, de la Facultad de Medicina de Murcia, por pruebas y discusiones sobre los criterios de detección de anomalías cardíacas. Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los proyectos TEC2016-75161-C2-1-4 y TEC2013-48439-C4-1-R.

Referencias

- [1] V Guise, J Anderson, and S Wiig. Patient safety risks associated with telecare: a systematic review and narrative synthesis of the literature. *BMC Health Serv Res*, 14:588, 2014.
- [2] Z Lu, X Chen, Z Dong, Z Zhao, and X Zhang. A prototype of reflection pulse oximeter designed for mobile healthcare. *IEEE J Biomed Health Inform*, 20(5):1309–1321, 2016.
- [3] L Sormno and P Laguna. *Bioelectrical Signal Processing in Cardiac and Neurological Applications*. Elsevier Academy Press, 2005.
- [4] SS Thomas, V Nathan, C Zong, K Soundarapandian, X Shi, and R Jafari. Biowatch: A noninvasive wrist-based blood pressure monitor that incorporates training techniques for posture and subject variability. *IEEE J Biomed Health Inform*, 20(5):1291–1300, 2016.

Eliminación de Ruido en Electrogramas de Fibrilación Auricular Mediante Descomposición de Modo Empírico

¹M. Martínez, ¹J. Ródenas, ¹R. Alcaraz, ²JJ. Rieta

¹ Grupo de Investigación en Electrónica, Telecomunicación y Bioingeniería, Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete, España, {miguel.martinez, juan.rodenas, raul.alcaraz}@uclm.es

²Biomedical Synergy, Departamento Ingeniería Electrónica, Universidad Politécnica de Valencia, España, jjrieta@upv.es

Resumen

A pesar de que la fibrilación auricular es la arritmia cardíaca más común en la práctica clínica diaria, los mecanismos que la provocan y perpetúan todavía no se conocen completamente. Sin embargo, en los últimos años el análisis de la actividad auricular registrada en electrogramas (EGM) obtenidos dentro de las aurículas se ha convertido en una herramienta fundamental para avanzar en su investigación. Desafortunadamente, la adquisición de esta señal libre de ruido y otras perturbaciones es todavía imposible. Así pues, la búsqueda de métodos capaces de reducir ruido, preservando al máximo la información clínica contenida por la señal es un reto insoslayable que, a día de hoy, no está resuelto. En este contexto, el presente trabajo compara la reducción de ruido y la alteración que provoca en la morfología de registros de EGM unipolares el filtrado tradicional que se aplica a estas señales durante su adquisición y uno de los métodos que mayor eficiencia ha demostrado sobre el electrocardiograma, tal como es el basado en la descomposición de modo empírico (EMD). Los resultados muestran que el método basado en EMD es capaz de eliminar mayor cantidad de ruido y, además, preservar en mayor medida la morfología de la señal. Sin embargo, su funcionamiento solo se puede considerar aceptable cuando la señal presenta un nivel de ruido reducido, ofreciendo en caso contrario un margen de mejora amplio.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es actualmente uno de los mayores retos cardiovasculares en el mundo desarrollado [1]. De hecho, es la arritmia supraventricular más común en la práctica clínica, afectando aproximadamente al 1.5-2 % de la población mundial [2]. Alrededor de 33 millones de individuos padecen esta arritmia en todo el mundo, diagnosticándose más de 5 millones de nuevos casos cada año [3]. Por otra parte, su incidencia y prevalencia incrementan con la edad, tal que alrededor del 15 % de las personas mayores de 80 años la padecen [2]. Sin embargo, las razones del incremento de su prevalencia, así como los mecanismos electrofisiológicos que la desencadenan y perpetúan [4], no son completamente conocidos. Esto dificulta su diagnóstico y tratamiento efectivo, significando un gasto del 15 % del presupuesto destinado a enfermedades cardíacas [5].

El análisis de la actividad eléctrica auricular ha jugado un papel importante en los últimos años, permitiendo conocer algunos aspectos de los mecanismos que provocan el comienzo, mantenimiento y perpetuación de dicha arritmia [6]. Esta señal puede ser capturada mediante un registro de superficie, tal como es el electrocardiograma (ECG), o a través de un registro intracardiaco, tal como es el electrograma (EGM). El ECG registra la actividad global del corazón en el tórax del paciente, mientras que el EGM representa la actividad eléctrica local recogida directamente en el tejido cardíaco. Obviamente, este último registro será capaz de proporcionar más información sobre el estado eléctrico del miocardio que el ECG. De hecho, esta señal es capaz de dar información precisa sobre el tiempo, dirección y complejidad de las activaciones auriculares en el campo de observación de los electrodos empleados para su adquisición [7].

El registro de los EGMs puede ser unipolar o bipolar. El EGM unipolar se obtiene posicionando un electrodo en el corazón y otro a cierta distancia para servir como referencia. Este registro proporciona información de la dirección de propagación del impulso, aunque en contrapartida también contiene señales de campo lejano generadas por la despolarización de tejidos remotos, tal como los ventrículos [8]. Por el contrario, el registro bipolar se obtiene de dos electrodos colocados próximos en un área específica, así ofreciendo información únicamente de la misma y perdiendo la posibilidad de determinar la dirección de propagación de la señal [7]. Por tanto, la información que proporcionan ambos tipos de registro es complementaria y, normalmente, se emplean de forma conjunta en estudios de electrofisiología [7].

Desafortunadamente, el entorno en el que se realiza la adquisición de estas señales es extraordinariamente ruidoso desde un punto de vista electromagnético. De hecho, son habituales ruidos de alta frecuencia producidos por los equipos que permiten monitorizar al paciente, así como otros ruidos inducidos por la red eléctrica (componente de 50 o 60 Hz) o por la actividad muscular no cardíaca [9]. Algunos estudios previos han determinado que la relación señal-ruido (SNR) mínima para poder detectar pequeños cambios en estas señales es de 20 dB [10]. Así pues, el pre-

procesado de las mismas para eliminar la mayor cantidad de ruido, sin alterar su morfología es una cuestión fundamental. Sin embargo, este aspecto todavía no ha recibido mucha atención en la literatura científica, ya que típicamente el EGM solo se filtra (de forma hardware) durante su proceso de adquisición para reducir la interferencia provocada por la red eléctrica, ruidos de baja y alta frecuencia, y otras perturbaciones de campo lejano [11].

En este contexto, el objetivo principal del presente trabajo es comparar la capacidad de reducción de ruido en EGMs unipolares de la descomposición de modo empírico (EMD), un método ampliamente utilizado para preprocesar el ECG [12], frente al filtrado convencional que se acaba de mencionar. Para ello, se emplearán señales sintéticas y medidas de comparación de morfologías entre señales, tal como la correlación y el error cuadrático medio.

2. Métodos

2.1. Base de datos

Tal como se acaba de mencionar, para el estudio propuesto se emplearon señales unipolares generadas sintéticamente, con el objetivo de poder cuantificar con la mayor precisión posible la cantidad de ruido eliminado, así como la alteración introducida en la morfología de la señal por los procedimientos bajo estudio. Para sintetizar estas señales de una forma realista, se utilizó un procedimiento similar al descrito por Oesterlin et al. [13]. Brevemente, en primer lugar se extrajeron las activaciones auriculares con mayor repetitividad morfológica de 20 registros reales bajo el efecto de adenosina, para así evitar la contaminación ventricular [14]. Dichas activaciones se emplearon como plantillas para recrear registros sin ruido con característica similares a los reales en cuanto a frecuencia dominante y variabilidad entre activaciones.

Concretamente, se generaron 50 señales limpias de 7 segundos de duración (referidas a lo largo del texto como $x(n)$) a las que se añadió diferentes niveles de ruido. La señal con ruido se refiere a lo largo del texto como $\tilde{x}(n)$. Esta interferencia se generó mediante un modelado autoregresivo de los intervalos entre activaciones auriculares de las señales reales, tal como se describe en [15]. De esta forma, se dispuso de señales con valores de SNR de 30, 25, 20, 15, 10 y 5 dB. Un ejemplo de una señal sintetizada con diferentes niveles de ruido se puede observar en la Figura 1.

2.2. Algoritmos de reducción de ruido

2.2.1. Filtrado tradicional del EGM

Algunas estructuras auriculares, tal como las venas pulmonares, pueden producir despolarizaciones eléctricas muy rápidas, que quedan registradas en el EGM como una actividad de alta frecuencia. Con el objetivo de reducir esta señal interferente, distorsionando lo mínimo posible la morfología del registro, éste es típicamente filtrado paso bajo con una frecuencia de corte de 300 Hz [8]. Esta señal también suele ser filtrada paso alto con una frecuencia de

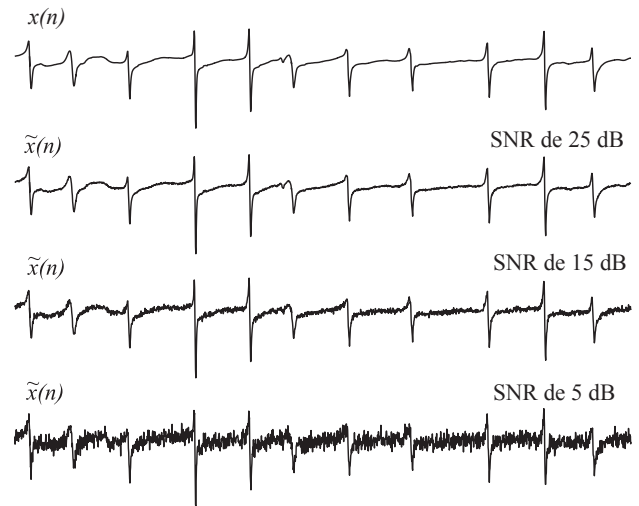


Figura 1. Registro EGM unipolar típico con diferentes niveles de ruido.

corte raramente superior a 3 Hz con el objetivo de eliminar la variación de la línea base, así como otros ruidos de baja frecuencia, tal como puede ser la contaminación ventricular [7]. Para filtrar las señales sintetizadas en el camino descrito, se emplearon filtros digitales de Butterworth, paso alto y paso bajo de segundo orden con las frecuencias de corte mencionadas aplicados bidireccionalmente.

2.2.2. Reducción de ruido basada en EMD

El método EMD descompone una señal en una suma de señales oscilatorias, llamadas funciones de modo intrínseco (IMF), las cuales contienen rangos de frecuencias contiguos. Esta transformación se comporta, por tanto, como un banco de filtros sin la necesidad de predefinir una frecuencia de corte [16]. Esta propiedad hace que el método sea especialmente útil para el procesamiento de señales no lineales y no estacionarias. De hecho, se ha utilizado ampliamente para la eliminación de ruido en ECG [17], así como en otras señales fisiológicas.

La descomposición de una señal en IMFs (en este caso $\tilde{x}(n)$) comienza con la identificación de todos los máximos y mínimos locales que presenta. A continuación, se reconstruyen las envolventes superior ($e_u(n)$) e inferior ($e_l(n)$) de la señal mediante la interpolación de los máximos y de los mínimos detectados y su media se resta de la señal para obtener la función:

$$h_1(n) = \tilde{x}(n) - \frac{e_u(n) + e_l(n)}{2}. \quad (1)$$

Este proceso se repite de forma recursiva hasta que la señal resultante cumple la condición:

$$\frac{|h_{k-1}(n) - h_k(n)|^2}{h_{k-1}(n)^2} \leq 0,3, \quad (2)$$

momento en el cual $h_k(n)$ se convierte en la primer IMF, llamada $c_1(n)$. El residuo $r_1(n) = \tilde{x}(n) - c_1(n)$ todavía contiene información útil, por lo que se le aplica el mismo procedimiento para obtener $c_2(n)$. De la misma forma,

también se obtienen $c_3(n), \dots, c_{10}(n)$, tal que la señal original se puede reconstruir sin pérdida de información como:

$$\tilde{x}(n) = \sum_{k=1}^{10} c_k(n) + r_{10}(n). \quad (3)$$

Las componentes de frecuencia que contienen las IMF disminuyen a medida que su nivel aumenta, por lo que es posible eliminar el ruido de alta frecuencia reconstruyendo la señal original sin las primeras IMFs [18]. Concretamente, se analizó la eliminación de ruido conseguida por descartar de forma progresiva las 4 primeras IMFs, tal que la señal limpia se estimó como:

$$\hat{x}(n) = \sum_{k=K}^{10} c_k(n) + r_{10}(n), \quad (4)$$

para $K = 2, \dots, 5$.

2.3. Evaluación de la reducción de ruido

La cantidad de ruido reducido por cada uno de los dos métodos se estimó a partir de la mejora de la SNR (es decir, ΔSNR) conseguida. De hecho, este parámetro se calculó como la SNR estimada después de la eliminación del ruido, es decir:

$$\Delta\text{SNR} = 10 \log_{10} \left(\frac{\hat{x}(n)^2}{(\hat{x}(n) - \hat{x}(n))^2} \right). \quad (5)$$

Adicionalmente, también se estudió la alteración morfológica producida por los algoritmos propuestos para reducir ruido. Para ello se calculó la correlación y el error cuadrático medio (MSE) entre la señal original $x(n)$ y la señal estimada después de eliminar el ruido $\hat{x}(n)$. Dado que el ampliamente utilizado índice de correlación de Pearson no considera las diferencias de amplitud entre señales, se empleó otro estimador de correlación para tener éstas en cuenta. Este índice, referido como ASCI (*adaptive signed correlation index*), se puede calcular como sigue para señales N muestras de longitud [19]:

$$\text{ASCI}(x(n), \hat{x}(n)) = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N x(k) \otimes \hat{x}(k), \quad (6)$$

donde \otimes se define como:

$$x(n) \otimes \hat{x}(n) = \begin{cases} 1 & \text{if } |x(n) - \hat{x}(n)| \leq \beta, \\ -1 & \text{if } |x(n) - \hat{x}(n)| > \beta. \end{cases} \quad (7)$$

El umbral β se seleccionó experimentalmente como un 5% de la desviación estándar de $x(n)$. También debe notarse que el valor MSE se normalizó por el valor cuadrático medio de la señal original para hacerlo independiente de su amplitud, de tal forma que el nuevo índice NMSE se calculó como:

$$\text{NMSE} = \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^N (x(k) - \hat{x}(k))^2}{\sum_{k=1}^N x(k)^2}}. \quad (8)$$

Índice	SNR					
	30dB	25dB	20dB	15dB	10dB	5dB
ASCI	0.999	0.982	0.847	0.589	0.357	0.207
NMSE	0.001	0.003	0.009	0.031	0.099	0.316

Tabla 1. Efecto del ruido en las señales originales.

Método	SNR _{inicial}	ΔSNR	ASCI	NMSE
Filtrado	30 dB	12.6 dB	0.792	0.109
	25 dB	12.5 dB	0.776	0.111
	20 dB	12.2 dB	0.723	0.115
	15 dB	11.5 dB	0.600	0.126
	10 dB	10.0 dB	0.427	0.161
	5 dB	7.3 dB	0.268	0.275
EMD	30 dB	12.6 dB	0.926	0.063
	25 dB	13.3 dB	0.937	0.056
	20 dB	13.6 dB	0.903	0.051
	15 dB	13.6 dB	0.732	0.044
	10 dB	11.1 dB	0.492	0.066
	5 dB	6.8 dB	0.297	0.159

Tabla 2. Comparación de los métodos de eliminación de ruido.

3. Resultados

Con el objetivo de comparar la mejora conseguida por las técnicas de eliminación de ruido estudiadas, en primer lugar se analizó cómo el ruido degradaba la morfología de las señales originales. Así, los valores medios de ASCI y NMSE obtenidos para cada uno de los valores de SNR considerados se muestran en la Tabla 1. Como era de esperar, conforme se incrementó el ruido, los valores de ASCI y NMSE disminuyeron y aumentaron, respectivamente.

Cohientemente, como se muestra en la Tabla 2, la morfología de los resultados se ve menos afectada para valores de ruido más pequeños, es decir, para valores de SNR mayores.

4. Discusión y conclusiones

En los últimos años, el estudio de la reducción del ruido en el ECG se ha tratado en multitud de trabajos, empleando una amplia variedad de técnicas diferentes [12]. Sin embargo, no ocurre lo mismo en el caso del EGM. Aunque esta señal puede verse menos afectada por el ruido que el ECG, ya que se adquiere directamente dentro de las aurículas, a día de hoy todavía es imposible registrarla sin ningún tipo de contaminación. Así pues, y considerando que el filtrado tradicional que se aplica durante su adquisición ha demostrado que altera su morfología [7], la búsqueda de nuevos algoritmos capaces de reducir la máxima cantidad de ruido en esta señal, alterando lo menos posible la información que contenga, es un interesante reto sin resolver. En este contexto, el presente trabajo ha analizado la capacidad de eliminación de ruido que es capaz de conseguir en el EGM uno de los métodos que ha mostrado mayor eficiencia sobre el ECG [12, 17].

Como muestran los resultados, los niveles de ruido que consigue reducir el filtrado clásico son sensiblemente menores que los conseguidos por el método basado en EMD.

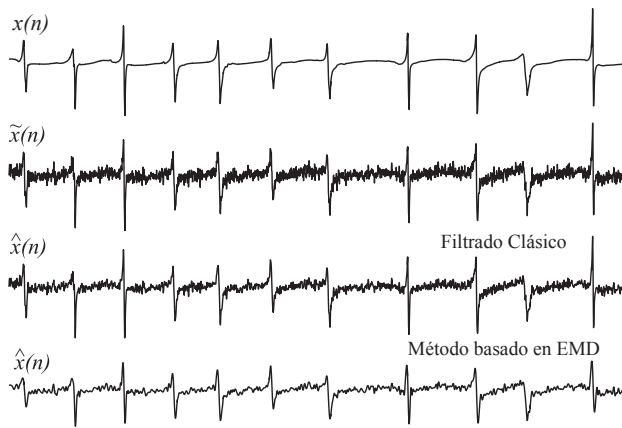


Figura 2. Comparación de la respuesta de los algoritmos de filtrado de ruido para un EGM unipolar con SNR de 5 dB.

Además, el filtrado tradicional también provoca una alteración morfológica elevada en la señal original, incluso para niveles de ruido reducidos. A este respecto, se puede observar en la Tabla 2 que el índice de correlación ASCI siempre es inferior al 80%. Por contra, el método basado en EMD consigue reducir mayores cantidades de ruido que el filtrado tradicional, manteniendo la correlación entre la señal original y la estimada por encima del 90% para valores de $SNR \geq 20$ dB. Por debajo de este nivel de ruido introduce una alteración morfológica importante, de forma que podría modificar la información clínica contenida por el registro. De hecho, el filtrado tradicional y EMD presentan un comportamiento muy parecido en términos del índice de correlación ASCI para valores de SNR de 5 y 10 dB.

Esta última observación también se puede apreciar en el ejemplo de la Figura 2, donde se presenta el comportamiento de ambos métodos para un EGM típico con una SNR de 5 dB. Así pues, se puede observar como el método basado en EMD es capaz de eliminar mayor cantidad de ruido que el filtrado tradicional, pero provocando una mayor alteración de las activaciones auriculares.

Como conclusión, se podría decir que en líneas generales el método basado en EMD elimina mayor cantidad de ruido y altera menos la información original de la señal que el filtrado tradicional. Además, su funcionamiento puede ser clínicamente aceptable para valores de SNR relativamente altos, pero todavía es susceptible de una importante mejora cuando el EGM presenta un nivel elevado de ruido.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada por los proyectos TEC2014-52250-R del Ministerio de Economía y Competitividad y PPII-2014-026-P de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha.

Referencias

- [1] Potter BJ, Le Lorier J. Taking the pulse of atrial fibrillation. *Lancet* Jul 2015;386(9989):113-5.
- [2] Zoni-Berisso M, Lercari F, Carazza T, Domenicucci S. Epidemiology of atrial fibrillation: European perspective. *Clin Epidemiol* 2014;6:213-20.
- [3] Chugh SS, Havmoeller R, Narayanan K, Singh D, Rienstra M, Benjamin EJ, Gillum RF, Kim YH, McAnulty Jr JH, Zheng ZJ, Forouzanfar MH, Naghavi M, Mensah GA, Ezzati M, Murray CJL. Worldwide epidemiology of atrial fibrillation: a global burden of disease 2010 study. *Circulation* Feb 2014;129(8):837-47.
- [4] Schotten U, Dobrev D, Platonov PG, Kottkamp H, Hindricks G. Current controversies in determining the main mechanisms of atrial fibrillation. *J Intern Med* May 2016; 279(5):428-38.
- [5] Wodchis WP, Bhatia RS, Leblanc K, Meshkat N, Morra D. A review of the cost of atrial fibrillation. *Value Health* 2012; 15(2):240-8.
- [6] Heijman J, Algalarrondo V, Voigt N, Melka J, Wehrens XHT, Dobrev D, Nattel S. The value of basic research insights into atrial fibrillation mechanisms as a guide to therapeutic innovation: a critical analysis. *Cardiovasc Res* Apr 2016;109(4):467-79.
- [7] Issa ZF, Miller JW, Zipes DP. Clinical arrhythmology and electrophysiology: a comparison to Braunwald's heart disease. (Chapter 4). 2nd edition. Elsevier, 2012.
- [8] Stevenson WG, Soejima K. Recording techniques for clinical electrophysiology. *J Cardiovasc Electrophysiol* Sep 2005;16(9):1017-22.
- [9] Venkatachalam KL, Herbrandson JE, Asirvatham SJ. Signals and signal processing for the electrophysiologist: part ii: signal processing and artifact. *Circ Arrhythm Electrophysiol* Dec 2011;4(6):974-81.
- [10] Venkatachalam KL, Herbrandson JE, Asirvatham SJ. Signals and signal processing for the electrophysiologist: part i: electrogram acquisition. *Circ Arrhythm Electrophysiol* Dec 2011;4(6):965-73.
- [11] Nollo G, Marconcini M, Faes L, Bovolo F, Ravelli F, Bruzone L. An automatic system for the analysis and classification of human atrial fibrillation patterns from intracardiac electrograms. *IEEE Trans Biomed Eng* Sep 2008; 55(9):2275-85.
- [12] Kabir MA, Shahnaz C. Denoising ecg signals based on noise reduction algorithms in emd and wavelet domains. *Biomedical Signal Processing and Control* 2012;7:481-489.
- [13] Oesterlein TG, Lenis G, Rudolph DT, Luik A, Verma B, Schmitt C, Dössel O. Removing ventricular far-field signals in intracardiac electrograms during stable atrial tachycardia using the periodic component analysis. *J Electrocardiol* 2015;48(2):171-80.
- [14] Atienza F, Almendral J, Moreno J, Vaidyanathan R, Talkachou A, Kalifa J, Arenal A, Villacastán JP, Torrecilla EG, Sánchez A, Ploutz-Snyder R, Jalife J, Berenfeld O. Activation of inward rectifier potassium channels accelerates atrial fibrillation in humans: evidence for a reentrant mechanism. *Circulation* Dec 2006;114(23):2434-42.
- [15] Corino VDA, Rivolta MW, Sassi R, Lombardi F, Mainardi LT. Ventricular activity cancellation in electrograms during atrial fibrillation with constraints on residuals' power. *Med Eng Phys* Dec 2013;35(12):1770-7.
- [16] Flandrin P, Rilling G, Goncalves P. Empirical mode decomposition as a filter bank. *IEE Signal Processing Letter* 2004; 11(112-114).
- [17] Blanco-Velasco M, Weng B, Barner KE. Ecg signal denoising and baseline wander correction based on the empirical mode decomposition. *Comput Biol Med* Jan 2008;38(1):1-13.
- [18] Chang KM. Ensemble empirical mode decomposition for high frequency ecg noise reduction. *Biomed Tech Berl Aug* 2010;55(4):193-201.
- [19] Lian J, Garner G, Muessing D, Lang V. A simple method to quantify the morphological similarity between signals. *Signal Processing* 2010;90:684-688.

Análisis de la señal ECG en pacientes con enfermedad de Párkinson

J.L. Ramón Valencia^{1,2}, A.García-Sánchez², J. Roca-Dorda², B.F. Giraldo^{3,4,5}

¹ Universidad El Bosque, Programa de Bioingeniería, Bogotá, Colombia, leninramon@unbosque.edu.co

² Universidad Politécnica de Cartagena, Departamento de Tecnología Electrónica, Cartagena, España

³ Universitat Politècnica de Catalunya, Barcelona, España

⁴ Institute for Bioengineering of Catalonia, Barcelona, España

⁴ CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Madrid, España

Resumen

La enfermedad del Párkinson es un tipo de trastorno del movimiento, causado por la degeneración de las células dopaminérgicas. La variabilidad del ritmo cardíaco en estos pacientes se puede ver alterada como consecuencia de la actividad motora. El estudio de esta variabilidad puede ayudar en el diagnóstico y análisis de la evolución de la enfermedad en estos pacientes. En este estudio se propone el análisis de parámetros extraídos de la señal electrocardiográfica en pacientes enfermos de Párkinson, con el propósito de obtener índices que puedan ser indicadores de esta enfermedad. Se propone un protocolo para registrar la señal ECG considerando 4 actividades diferentes. Se registraron 19 pacientes y 16 sujetos sanos. Las señales fueron analizadas en el dominio temporal considerando los intervalos RR de la señal ECG, y en el dominio frecuencial, considerando las bandas de muy baja (VLF: 0-0.05 Hz), baja (LF: 0.05-0.15 Hz) y alta (HF: 0.15-0.4 Hz) frecuencia, respectivamente. De acuerdo con los resultados obtenidos, el índice de la actividad simpática presentó diferencias estadísticamente significativas al comparar pacientes versus sanos, durante las 4 actividades desarrolladas.

El intervalo RR también es un indicador de la variación de la actividad cardíaca en los pacientes, especialmente al compararlos en el estado basal. Índices que relacionen parámetros temporales y frecuenciales podrían ser un claro indicador de la actividad cardiovascular de los pacientes enfermos de Párkinson.

1. Introducción

La enfermedad del Parkinson es un trastorno degenerativo que puede desarrollar posibles alteraciones en la actividad cardíaca, y cambios en el sistema nervioso. Alteraciones en el sistema nervioso autónomo (SNA), incluyendo cambios en la variabilidad del ritmo cardíaco (VFC), han sido descritos como una manifestación no motora presente en estos pacientes. Estas alteraciones pueden estar relacionadas con la disautonomía cardiovascular [1,2]. La variabilidad del ritmo cardíaco es un indicador de la función cardiovascular que permite analizar la evolución de la enfermedad en este tipo de pacientes.

El desarrollo de sistemas que permiten analizar señales biomédicas, buscando nuevas alternativas para solucionar los problemas en el sector salud, son cada vez más

frecuentes. La utilización de estas herramientas puede ser muy útil en el estudio de diferentes tipos de patologías, y contribuir a la detección precoz de estas enfermedades. La enfermedad del Párkinson es un trastorno degenerativo y lentamente progresivo del sistema nervioso central. Esta enfermedad afecta a una de cada 250 personas mayores de 40 años, una de cada 100 personas mayores de 65 años, y entorno a una de cada 10 mayores de 80 años. Normalmente comienza a partir de los 50 años, raras veces se presenta en niños o adolescentes. De acuerdo con la literatura, pruebas de reflejos cardiovasculares pueden introducir indicadores de cambios a diferentes niveles de la enfermedad [3]. Existen otras pruebas cardiovasculares ambulatorias que permiten evaluar la disfuncionalidad del ritmo cardíaco [4]. La severidad de la enfermedad puede producir mayores complicaciones en estos pacientes, llevándolos hasta la muerte en algunos casos [5].

Las interacciones de los diferentes sistemas funcionan como un circuito realimentado por el sistema nervioso central (SNC), quien recibe impulsos y son controlados por el sistema nervioso autónomo (SNA), a través de los sistemas simpático y parasimpático. La estimulación simpática aparece durante el proceso de la despolarización del nodo sinusal, estimulando la actividad ca

rdíaca con un descenso en la VFC. Por el contrario, la actividad parasimpática está asociada con una reducción de la actividad del nodo sinusal, que conlleva un proceso de bradicardia con un incremento de la VFC [6]. La figura 1 representa esquemáticamente la relación entre el SNA y la actividad cardíaca.

En este estudio se propone el análisis de la variabilidad de la frecuencia cardíaca, a partir de la señal ECG registrada en pacientes con la enfermedad de Párkinson. Se propone determinar indicadores que permitan analizar la VFC de los pacientes y de los sujetos sanos. A partir de un grupo de pacientes enfermos de Párkinson (grupo EP) y un grupo de sujetos sanos (grupo CO), se analizó la señal ECG (derivación I), considerando 4 actividades: en posición supino y estado de reposo, realizando ejercicio con respiración forzada, en reposo y posición ortostática, y realizando una marcha natural [7]. Se propone determinar

si hay diferencias estadísticamente significativas en la variabilidad de la frecuencia cardíaca al comparar los dos grupos de pacientes en las diferentes actividades.

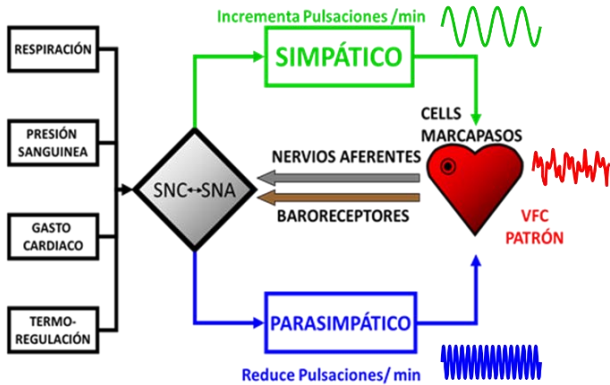


Figura 1. Circuito realimentado Sistema Nervioso-Corazón

2. Metodología

2.1. Estudio de la población

La población escogida para este estudio corresponde a 35 sujetos (16 hombres y 19 mujeres), procedentes de dos instituciones, del Hospital General Universitario de Alicante (HGUA), España, donde se registraron 10 pacientes enfermos de Párkinson y 13 sujetos sanos, y del Centro de Ingeniería Biomédica para la Integración del Discapacitado (CIBID), España, con 9 pacientes y 3 sujetos sanos [8]. Los estudios fueron avalados por los respectivos Comités Éticos de cada centro (V1.00, Marzo 2009). Las personas sometidas a este estudio fueron debidamente informadas, y dieron su consentimiento.

2.2. Adquisición de los datos

Este estudio está basado en el análisis de la señal ECG (derivación I) de 19 pacientes enfermos de Párkinson (EP) y 16 sujetos control (CO). Las señales fueron registradas utilizando un holter digital, de la marca SYNEFLASH, a una frecuencia de muestreo de 220 muestras por segundo, para los registros de la procedencia HGUA. A los pacientes procedentes del centro CIBID se les registro la señal ECG con un electrocardiógrafo de marca g.MOBilab, a una frecuencia de muestreo de 256 muestras por segundo [10].

Tanto los pacientes EP como los CO se sometieron a un registro de 20 minutos de señal ECG, realizando las siguientes actividades:

- Posición supino en estado de reposo (T1)
- Ejercicio con respiración forzada (T2)
- Posición ortostática (T3)
- Marcha natural (T4)

Las posibles relaciones entre estas actividades permiten estudiar el equilibrio entre los sistemas simpático y parasimpático de los pacientes a través de una evaluación

de la función autónoma cardiovascular [8]. La figura 2 representa de forma esquemática el protocolo seguido para el registro de las señales.

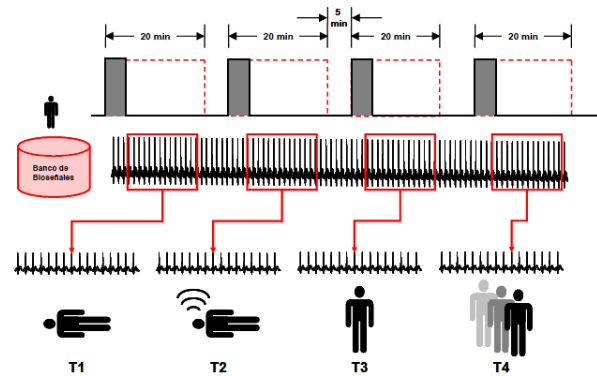


Figura 2. Representación esquemática del protocolo seguido por los sujetos estudiados: T1-registro en posición supino, T2-ejercicio con respiración forzada, T3-posición ortostática, y T4-marcha natural.

Las señales fueron debidamente preprocesadas, aplicando los diferentes filtros pasa bajos necesarios para eliminar interferencias y ruido añadido en el proceso de la adquisición, ajeno al proceso fisiológico analizado. Para analizar la periodicidad de los registros se implementaron los siguientes umbrales para su caracterización: “umbral de corte”, “umbral de tramos” y “umbral absoluto” [8,9]. Se retiraron los registros de dos pacientes enfermos de Párkinson debido a la mala calidad de las señales. Finalmente fueron analizados 17 pacientes y 16 sujetos sanos.

La figura 3 presenta un ejemplo de la señal ECG de un sujeto sano, en estado de reposo (T1). Las señales fueron normalizadas entre -1 y 1. El sistema permite detectar los intervalos RR a partir de diferentes umbrales. Se obtuvieron los valores correspondientes a la VFC, para cada paciente.

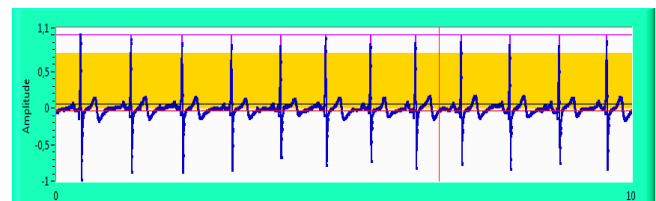


Figura 3. Ejemplo de la señal de ECG de un sujeto sano, registrado durante la actividad T1 - en estado de reposo o basal.

Igualmente la figura 4 representa un ejemplo de la señal ECG de un paciente enfermo de Párkinson, registrado durante la marcha (actividad T4). A diferencia de la figura 3, los registros de los pacientes enfermos de Párkinson presentan una mayor variabilidad en el registro.

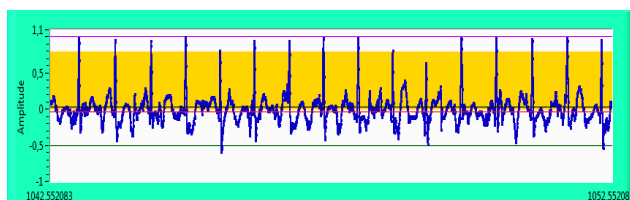


Figura 4. Ejemplo de la señal de ECG de un paciente enfermo de Parkinson, registrado durante la actividad de la marcha (T4).

2.3. Extracción de parámetros

Por cada sujeto analizado se obtuvieron los datos correspondientes a sexo y edad. A partir de la señal ECG preprocesada, para cada sujeto y cada actividad se obtuvieron parámetros relacionados con el valor medio del intervalo RR (distancia entre dos latidos cardíacos), la desviación estándar del RR (RR_D), la frecuencia cardíaca (F_c). A partir de la densidad espectral de potencia aplicada a la señal ECG, se obtuvieron los valores correspondientes a las bandas frecuenciales muy baja (VLF: 0-0.05 Hz), baja frecuencia (LF: 0.05-0.15 Hz), y alta frecuencia (HF: 0.15-0.40 Hz), así como el índice de actividad simpática (IAS) definido por la relación entre las bandas de frecuencias VLF/HF [8].

Los parámetros fueron analizados utilizando el test de Kolmogorov-Smirnov, considerando un p -valor ≤ 0.05 como parámetro con diferencias estadísticamente significativas.

3. Resultados

La tabla 1 presenta los valores medios y desviaciones estándar de los parámetros extraídos para cada grupo de pacientes.

	EP	CO
Pacientes	17	16
Sexo (Hombres/Mujeres)	9 / 8	10/6
Edad (años)	64 \pm 9	55 \pm 10
F_c (lat/min)	72 \pm 8	79 \pm 12
RR (ms)	841 \pm 95	778 \pm 112
RR_D (ms) (IC)	49 (29.5-68.4)	51 (35.3-66.7)
IAS	2.43 \pm 1.9	3.82 \pm 2.5

ms: milisegundos; IC: intervalo al confianza del 95%.

Tabla 1. Parámetros descriptivos de las dos poblaciones

Al comparar los resultados obtenidos para cada tipo de actividad al comparar el grupo de pacientes versus control, se observó que el índice de actividad simpática presentaba diferencias estadísticamente significativa en todos los casos (p -valor < 0.0005). También se obtuvo una buena discriminación analizando el valor medio intervalo RR,

siendo menor en todos los casos del grupo de pacientes (Tabla 2).

	EP	CO	p -valor
T1			
RR (ms)	778 \pm 112	841 \pm 95	<0.0005
IAS	3.82 \pm 2.53	2.43 \pm 1.96	<0.0005
T2			
RR (ms)	749 \pm 110	860 \pm 112	0.040
IAS	4.68 \pm 3.49	3.55 \pm 1.96	<0.0005
T3			
RR (ms)	693 \pm 117	780 \pm 111	n.s.
IAS	3.32 \pm 1.96	2.43 \pm 1.96	<0.0005
T4			
RR (ms)	649 \pm 95	731 \pm 120	0.037
IAS	2.59 \pm 1.34	2.43 \pm 1.96	<0.0005

ms: milisegundos; n.s.: no hay diferencia estadísticamente significativa.

Tabla 2. Media y desviación estándar de los parámetros RR, IAS, al comparar el grupo de pacientes versus el grupo control.

En el análisis de las bandas frecuenciales se observaron diferencias significativas en la banda de muy baja frecuencia para todas las actividades, siendo el menor valor al comparar enfermos versus sanos para la T1 (p -valor=0.008). Para la banda de baja frecuencia se encontraron diferencias significativas en todas las actividades (p -valor < 0.0005), excepto al comparar la actividad T1. Al analizar la banda de altas frecuencias T1, T3 y T4 presentaron también diferencias significativas con un p -valor < 0.0005 .

Para analizar las posibles variaciones dentro de cada grupo de pacientes en función de la actividad desarrollada se compararon en cada grupo de pacientes, los valores medios del intervalo RR y el índice IAS. La tabla 3 presenta los p -valores obtenidos para el grupo EP y para el grupo CO.

4. Discusión y conclusión

La enfermedad del Parkinson afecta directamente el comportamiento del sistema nervioso central. En el estudio propuesto ha sido posible establecer diferencias significativas en el comportamiento de la actividad cardíaca de estos pacientes analizando parámetros extraídos de la señal ECG. Una marcada diferencia está dada por la frecuencia cardíaca, siendo menor en el grupo de pacientes EP que en el grupo CO.

El índice de la actividad simpática refleja los cambios producidos en el sistema cardiovascular, y la influencia sobre el sistema parasimpático.

	EP	CO
T1 vs T2		
RR (ms)	n.s.	<0.0005
IAS	0.005	<0.0005
T1 vs T3		
RR (ms)	0.013	0.006
IAS	<0.0005	<0.0005
T1 vs T4		
RR (ms)	0.004	0.001
IAS	<0.0005	0.056
T2 vs T3		
RR (ms)	0.010	0.022
IAS	n.s.	<0.0005
T2 vs T4		
RR (ms)	0.002	0.002
IAS	0.047	<0.0005
T3 vs T4		
RR (ms)	0.013	n.s.
IAS	<0.0005	n.s.

Tabla 3. *P-valores obtenidos al comparar las actividades T1, T2, T3 y T4 en el grupo de pacientes enfermos de Párkinson y en el grupo control*

Los resultados sugieren que este tipo de índices pueden ayudar a clasificar los grupos de pacientes analizados. Estos resultados deberán ser evaluados con un mayor número de pacientes. Igualmente se deberán analizar parámetros complementarios asociados a esta patología.

Agradecimientos

Los autores desean reconocer la cooperación de la Hospital General Universitario de Alicante HGUA y el Centro de Ingeniería Biomédica para la Integración del Discapacitado CIBID.

Referencias

- [1] D. Devos, M. Kroumova, R. Bordet, H. Vodougnon, J. D. Guieu, C. Libersa and A. Destee, "Heart rate variability and Parkinson's disease severity," *J. Neural Transm.*, vol. 110, pp. 997-1011, 2003. (ISSN: 0300-9564).
- [2] A. Alonso, X. Huang, T.H. Mosley, G. Heiss, H. Chen, "Heart rate variability and the risk of Parkinson's disease: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study" *Ann Neurol.* 77(5): 877-883. doi:10.1002/ana.24393, 2015.
- [3] B. Holmberg, M. Kallio, B. Johnels and M. Elam, "Cardiovascular reflex testing contributes to clinical evaluation and differential diagnosis of Parkinsonian syndromes," *Movement Disorders*, vol. 16, pp. 217-225, 2001. (ISSN: 0885-3185).
- [4] Haapaniemi TH, Pursiainen v, Korpelainen JT, Huikuri HV, Sotaniemi KA, Myllyla VV. Ambulatory ECG and analysis of heart rate variability in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2001; 70 (3): 305-310. (ISSN: 0022-3050)
- [5] M. Pecyna, "The level of intelligence and heart rate variability in men after myocardial infarction," *Journal of Physiology and Pharmacology*, vol. 57, pp. 283, 2006. (ISSN: 0867-5910)
- [6] A García-Sánchez, J Roca-Dorda, JL Ramón-Valencia, J Roca-González, A Monge, M Ortega. Computer Based Tool for Temporal and Spectral Analysis of Electrocardiographic Records. *Computers in Cardiology* 2006; 33 pp: 585-588. (ISSN: 0276-6574)
- [7] JL Ramón Valencia, A. García-Sánchez, J. Roca-Dorda. Software clínico para el análisis temporal y espectral de registros de electrocardiografía, *Revista de Tecnologías de Avanzada*, vol. 28, pp 145. 2016. (ISSN: 1692-7257)
- [8] García-A, Ramón JL, Monge A, Guillamón A, Dorda J. y González J. Sistema de Ayuda, Análisis e Interpretación de la modificación de la (VFC) EN EP Y PARKINSONISMOS Actas del XXVI Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2007).2007, pp. 158A.
- [9] García-Sánchez, J. Roca-Dorda, JL Ramón-Valencia, A. Monge-Argilés, A. Guillamón Frutos, J Roca-González. Análisis Comparativo de Tres métodos para obtener la periodicidad del registro ECG. pp: 150, CASEIB 2008; (ISBN 9788469136416).
- [10] Ramón Valencia, Jairo Lenin. "Herramienta basada en el ordenador para análisis temporal y espectral de registros ECG: aplicación a la enfermedad de Parkinson", Tesis Univ. Politécnica de Cartagena, Departamento de Tecnología Electrónica, Fecha de Publicación, 20 de enero de 2012 pagina 251 p.
- [11] JL Ramón Valencia, A. García-Sánchez, J. Roca-Dorda, A. Monge-Argilés, J Roca-González, Análisis de las variables obtenidas en el Dominio del Tiempo y Espectrales de los registros de Electrocardiografía para el distinguir entre grupo control y Enfermos de Parkinson, CASEIB, Barcelona,2014, pp, 130 .(ISBN: 978-84-617-2446-8)

Evaluación del registro y transmisión de señales electromiográficas mediante un dispositivo inalámbrico

J. Estévez-Piorno^{1,2}, M. Ràfols-de-Urquía^{1,2}, A. Torres^{1,2,3}, L. Estrada^{1,2,3}, R. Jané^{1,2,3}

¹Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), Barcelona, España
{jestevez, mrafols, atorres, lestrada, atorres, rjane}@ibecbarcelona.eu

²Universitat Politècnica de Catalunya (UPC) – Barcelona Tech, Barcelona, España

³Biomedical Research Networking Center in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), España

Resumen

Los dispositivos vestibles son aquellos dispositivos que se incorporan a piezas de ropa u otros accesorios que se puedan llevar cómodamente en el cuerpo. Estos dispositivos funcionan habitualmente mediante la comunicación inalámbrica. Esta comunicación consiste en la transmisión de información entre dos o más puntos que no están conectados mediante un conductor eléctrico. Shimmer es un dispositivo multisensor vestible con unas prestaciones muy altas que lo diferencian de otros dispositivos y que permite de una forma simple la medida de parámetros cinemáticos y fisiológicos que pueden ser capturados y visualizados en tiempo real. Sin embargo, estos dispositivos pueden presentar pérdidas de datos durante la adquisición de señales biomédicas. En este estudio se ha evaluado la pérdida de datos durante la adquisición de señales cinemáticas y fisiológicas. Se han realizado registros electromiográficos de músculos esqueléticos usando las distintas vías de registro y configuraciones que ofrece el dispositivo. Los registros se han realizado en un sujeto sano. Se ha observado que a medida que se incrementa la frecuencia de muestreo y a un mayor número de canales, la cantidad de pérdidas aumenta. En general, a una frecuencia de muestreo de 512 Hz el dispositivo Shimmer es capaz de obtener señales sin pérdidas sin importar la vía de registro utilizada.

1. Introducción

La medida de señales bioeléctricas por medio de electrodos superficiales es hoy en día una práctica común en el ámbito de la medicina y el deporte, tanto para el diagnóstico clínico, como para la investigación o la asistencia clínica y deportiva. Al tratarse de señales de baja amplitud, se requieren equipos instrumentales de amplificación y filtrado que permitan acondicionar las señales de interés para luego ser estudiadas. En general, dichos sistemas requieren cables y una fuente de alimentación, lo que dificulta la monitorización de parámetros en entornos reales fuera del ambiente de laboratorio. En los últimos años, gracias al desarrollo de la tecnología inalámbrica, un gran número de dispositivos médicos han sido diseñados con un gran potencial para la adquisición de señales fisiológicas. Muchos de estos dispositivos no se consideran tan robustos como los equipos de adquisición convencionales. En el presente trabajo han sido adquiridas señales electromiográficas (EMG) y electrocardiográficas

(ECG), además del movimiento respiratorio de baja frecuencia utilizando un dispositivo inalámbrico. Estos dispositivos poseen la ventaja de ser ligeros y de pequeña dimensión permitiendo registrar distintas señales de origen fisiológico. Sin embargo, los dispositivos móviles e inalámbricos pueden presentar pérdidas de información durante el registro y transmisión de datos [1].

El objetivo de este estudio es la evaluación de la pérdida de datos del dispositivo Shimmer a distintas configuraciones y usando las diferentes vías de registro. Para ello se pretende evaluar y cuantificar la fiabilidad de registro de las distintas vías de adquisición a partir del número de muestras grabadas. Los resultados del presente estudio se utilizarán en un estudio posterior en el que se evaluará el dispositivo Shimmer para el registro de la señal electromiográfica del músculo diafragma

2. Materiales y Métodos

2.1 Dispositivo Shimmer3

La evaluación de pérdida de datos se ha realizado usando un dispositivo Shimmer3 (Shimmer Research Ltd, Dublin, Ireland). Este dispositivo ofrece la medida de parámetros cinemáticos, fisiológicos [2, 3]. Esta plataforma almacena los datos registrados de tres formas distintas: (1) en una tarjeta SD interna, (2) en un ordenador mediante su software propietario (Consensus) donde los datos se transmiten vía Bluetooth® y en un dispositivo Android®, mediante la aplicación ShimmerCapture. Este sistema también ofrece la posibilidad de registrar a diferentes frecuencias de muestreo (desde 51.2 Hz hasta 2048 Hz).

2.2 Registro de señales electromiográficas

El protocolo de evaluación de pérdida de datos se ha realizado a un sujeto masculino sano de 23 años y de condición física normal. Este protocolo se ha realizado tras ser aprobado por el Instituto de Bioingeniería de Cataluña (IBEC) y tras firmar un acuerdo de participación con el sujeto.

Para evaluar la pérdida de datos los registros de ensayo se han llevado a cabo de la forma más realista posible. Por ello, se han conectado los dos canales EMG del dispositivo a dos músculos antagonistas (bíceps y tríceps brachii) del sujeto mediante electrodos EMG de superficie. Se han seleccionado estos dos músculos por su fácil y estandarizado proceso de adquisición, ya que lo importante

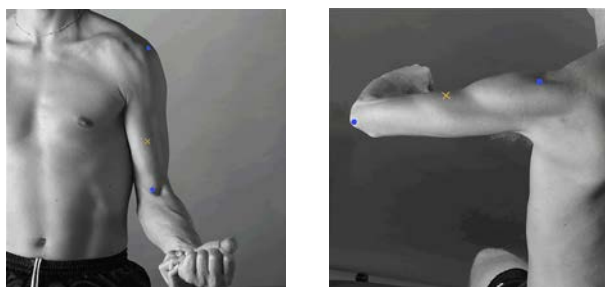


Figura 1. Ubicación de los electrodos superficiales EMG: Biceps (izquierda) y tríceps braquial (derecha). Tomado de www.seniam.org

de este estudio no es el tipo de señal registrada, sino evaluar si existen pérdidas de datos en el registro.

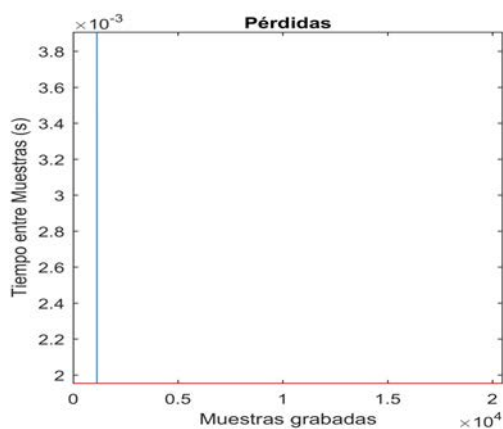
La colocación de los electrodos (Figura 1) [4] se ha realizado siguiendo las recomendaciones del SENIAM (Surface ElectroMyoGraphy for the NonInvasive Assessment of Muscles), proyecto europeo cuya finalidad es unificar una metodología en la colocación de los electrodos para el registro de EMG y el posterior procesado de las señales eléctricas.

Para que la impedancia de la piel sea baja y conseguir así una señal de mejor calidad, se exfolia la piel con un gel abrasivo para medidas de potenciales y posteriormente se limpia la zona con alcohol. También se aplicó un gel conductor en el electrodo para mejorar su conductividad.

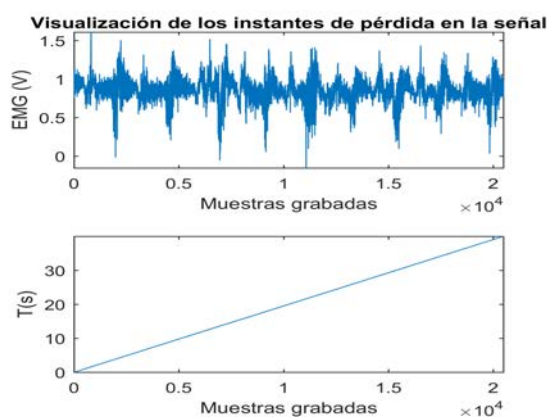
Este protocolo se ha realizado a dos niveles: usando dos canales EMG de registro y usando dos canales EMG y el acelerómetro (Wide Range Accelerometer o Low Range Accelerometer). Estos dos niveles han sido registrados a diferentes frecuencias de muestreo (512 Hz, 1024 Hz y 2048 Hz) y con las tres vías de registro que ofrece Shimmer3. Se ha usado el Wide Range Accelerometer (WRA) para registrar guardando los datos directamente en la tarjeta SD y y para registrar los datos en un PC, mientras que se ha usado el Low Range Accelerometer (LRA) para registrar los datos en un dispositivo móvil. En total, por lo tanto, se han realizado 18 registros de duración variable. Para el registro mediante un dispositivo móvil Android vía Bluetooth se ha utilizado un Sony Xperia M2.

2.3 Evaluación de la pérdida de datos

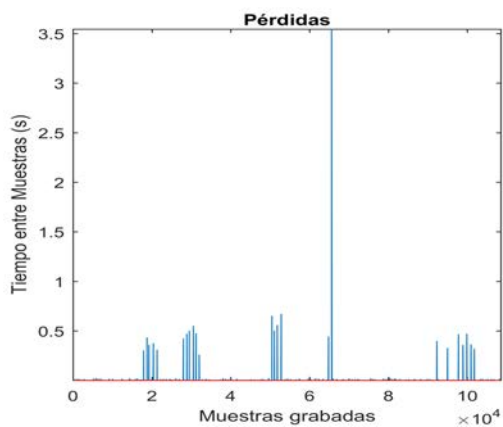
Para realizar la evaluación de pérdida de datos en estos registros se ha creado un algoritmo que analiza el vector de tiempo de las señales registradas y comprueba si el periodo entre muestras es superior al correspondiente según la frecuencia de muestreo preestablecida. Cuando hay un desfase entre estos dos parámetros significa que se ha iniciado un periodo en el que el dispositivo no guarda las muestras que debería. Teniendo en cuenta la frecuencia de muestreo el programa cuenta el tiempo que hay de más entre muestra y muestra y calcula su equivalencia en muestras perdidas. De esta forma, la función distingue los periodos de pérdidas y las muestras perdidas.



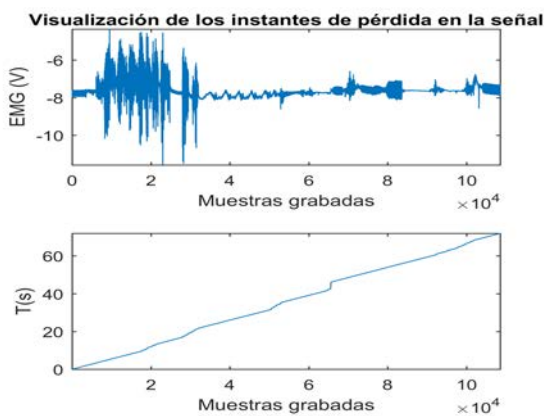
(a1)



(a2)



(b1)



(b2)

Figura 2. (a) Gráficos de un registro con un periodo de pérdidas. (b) Gráficos de un registro con muchos periodos de pérdidas.

	Configuración	2 EMG + WRA			2 EMG		
		Fm (Hz)	512	1024	2048	512	1024
Adquisiciones guardadas en la tarjeta SD	T(s)	57	75.75	78.27	41.23	70.5	37.73
	MT	29186	77572	160294	21109	72194	77280
	NPP	2	2349	4713	0	4	1479
	TP(s)	0.0137	2.3213	4.6304	0	0.0332	0.7319
	MP(%)	0.02	3.06	5.92	SP	0.05	1.94
Adquisiciones grabadas en el PC vía Bluetooth®	T(s)	52.03	57.37	71.91	36.57	65.42	33.11
	MT	26641	58744	147104	18724	66906	67814
	NPP	5	1789	108523	1	11	14061
	TP(s)	0.0137	1.7557	18.872	0	0.0996	2.06
	MP(%)	0.03	3.06	26.23	SP	0.02	6.22
	Configuración	2 EMG + LRA			2 EMG		
	Fm (Hz)	512	1024	2048	512	1024	2048
Adquisiciones grabadas en un dispositivo móvil vía Bluetooth®	T(s)	33.49	57.02	35.04	40.93	47.69	35.16
	MT	17149	58391	72502	18922	48831	72008
	NPP	16	18	366	3	9	231
	TP(s)	1.123	38.4326	27.258	0.3867	28.167	26.3828
	MP(%)	3.35	67.40	77.00	1.05	59.07	75.04

Tabla 1. Resultado de las pérdidas sufridas por las tres diferentes vías de registro, a las dos configuraciones y a las tres frecuencias de muestreo. *Fm*: Frecuencia de muestreo, *T*: tiempo de adquisición en segundos, *MT*: muestras totales que debería contener la señal registrada, *NPP*: número de periodos perdidos sufridos durante el registro, *TP*: sumatorio del tiempo de todos los periodos de pérdidas en segundos, *MP(%)*: muestras perdidas durante el registro en tanto por ciento.

En la Figura 2 se muestran dos registros realizados durante el estudio (a y b). En la Figura 2 (a2) superior se muestra una señal registrada, mientras que en la parte inferior se presenta la evolución del tiempo respecto a las muestras grabadas. En la parte (a1) de la figura se muestran los periodos de pérdidas. El primer registro (a) presenta sólo un periodo de pérdidas (a1) y tan corto que no se aprecia en el gráfico de la evolución del tiempo (a2). El segundo registro (b) presenta muchos más periodos de pérdidas (b1) y de mayor duración. Cuanto más alto es el pico del gráfico (b1), más tiempo ha estado el dispositivo perdiendo muestras. También se aprecia en el gráfico de evolución del tiempo (b2) el cual pierde la linealidad en varios puntos.

3. Resultados

La Tabla 1 muestra los resultados obtenidos del estudio realizado sobre la pérdida de datos que se produce en el dispositivo Shimmer3 durante el registro inalámbrico de señales electromiográficas. En la tabla 1 se muestra el tiempo, las muestras grabadas, el número de periodos de pérdidas, el tiempo total perdido y el tanto por ciento de muestras perdidas con respecto a las muestras totales grabadas de cada uno de los registros realizados con las tres vías de registro, a las dos configuraciones especificadas anteriormente (2 canales EMG y acelerómetro, y sólo 2 canales EMG) y a frecuencias de muestreo de 512, 1024 y 2048 Hz.

Con la primera vía de registro, es decir, grabando los datos en la tarjeta SD interna de Shimmer3 apreciamos que el dispositivo sufre pocas pérdidas o en algunos casos nulas a

las diferentes configuraciones. En el peor de los casos, en el que los dos canales EMG y el Wide Range Accelerometer se hayan activados, se pierden alrededor de 4.6 segundos de un registro de 78.3 segundos, repartidos en un total de 4713 periodos de pérdidas. En resumen, un 5.92% de las muestras totales. Esta vía de registro es la que ofrece menores pérdidas de las tres que ofrece el dispositivo Shimmer3.

Con la segunda vía de registro, grabando los datos en un PC mediante Bluetooth usando el software proporcionado por la empresa ShimmerSensing™ (Consensys®) se pierden más paquetes de datos que en el caso anterior aunque la magnitud de las pérdidas es similar menos con los dos canales EMG y el WRA activados y registrando a una frecuencia de muestreo de 2048 Hz, que se obtiene una cantidad de pérdidas sustancialmente mayor. Concretamente se pierden alrededor de 18.9 segundos de un registro de 71.9 segundos, repartidos en 108523 periodos de pérdidas. Estas pérdidas corresponden a un 26,23% de las muestras totales.

Finalmente, transmitiendo los datos registrados directamente a un dispositivo mediante la aplicación Shimmer Capture para Android se han obtenido muchas más pérdidas que con las anteriores vías de registro. Registrando a una frecuencia de muestreo de 512Hz las pérdidas con las dos configuraciones (2 EMG+LRA y 2 EMG) no son muy significantes. Son de un 3,35% y un 1.05% respectivamente. Por otro lado, los registros realizados a frecuencias de muestreo sufren pérdidas muy significantes, igual o superiores al 59.07% y llegando a perder hasta un 77% de las muestras totales. En estos casos se pierden más muestras de las que se registran.

4. Discusión y conclusión

En este trabajo se ha demostrado que el dispositivo Shimmer3 únicamente permite una adquisición prácticamente sin pérdidas cuando se registran los datos utilizando una frecuencia de 512 Hz y guardando los datos directamente en la tarjeta SD o en el PC vía Bluetooth. A esta frecuencia y con los dos canales EMG y el WRA registrando solo se sufre un 0.02% (SD) y un 0.03% (PC) de pérdidas. Únicamente con los dos canales EMG registrando no se sufren pérdidas en el registro.

Aunque el software de Shimmer ofrece la posibilidad de adquirir a una frecuencia de muestreo de hasta 2048 Hz, no se garantiza un muestreo uniforme a tales frecuencias, y se ha comprobado que en muchos casos el sistema termina muestreando a frecuencias inferiores.

El registro directo en la tarjeta SD es el que ha funcionado mejor. Usando este método de registro las pérdidas son mínimas, y tienen más posibilidad de ocurrir cuanto mayor es la frecuencia de muestreo y cuantos más canales se encuentran registrando. (Pérdidas máximas: 5.92% con 2 canales EMG y WRA registrando a 2048 Hz).

Recientemente Estrada et al registró la actividad electromiográfica del diafragma [6] utilizando este mismo dispositivo a una frecuencia de muestreo de 1024 Hz y registrando los datos en un PC vía Bluetooth, pero no reportó la pérdida de datos. Sin embargo, en el presente estudio, al realizar el protocolo de evaluación de pérdida

de datos a las mismas condiciones se han sufrido pérdidas de un 3.6% de las muestras totales.

Cuando se realizan adquisiciones vía Bluetooth con un dispositivo móvil, se produce siempre una pequeña oscilación alrededor de la frecuencia predeterminada. En adquisiciones vía Bluetooth y/o a altas frecuencias de muestreo se recomienda el uso del Low Range Accelerometer (LRA) en lugar del Wide Range Accelerometer (WRA).

Finalmente, no se recomienda el uso del Bluetooth para transmitir datos a un dispositivo Android registrados a frecuencias de muestreo superiores a 512 Hz, ya que las pérdidas son muy abundantes. Muestreando a frecuencias más altas, y con dos o más canales registrando, se obtienen pérdidas mayores o iguales al 59.07% de las muestras totales que se deberían haber registrado.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado en parte por la Secretaria de Universidades e Investigación del Departamento de Economía y Conocimiento del Gobierno de Cataluña (Grupo de Investigación Consolidado GRC 2014 GR 1596) y por el Ministerio de Economía y Competitividad, ref. DPI2015-68820-R (MINECO/FEDER). El cuarto autor ha sido financiado por el Instituto para la Formación y Aprovechamiento de Recursos Humanos y de la Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (Programa IFARHU-SENACYT, beca 270-2012-273).

Referencias

- [1] Estrada L, Torres A, Sarlabous L, Jane R. Respiratory Signal Derived from the Smartphone Built-in Accelerometer during a Respiratory Load Protocol. *37th Annual International Conference of the IEEE, Milan, 2015*, pp 6768-6771.
- [2] Donovan KJ. SHIMMER: A new tool for temporal gait analysis. *In Proceedings of the 31st Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society: Engineering the Future of Biomedicine, EMBC 2009*. pp. 3826–3829.
- [3] Ritcher R. Real-time ECG and EMG analysis for biking using android-based mobile devices. *Proceedings, 11th International Conference on Wearable and Implantable Body Sensor Networks, BSN 2014*, pp.104–108.
- [4] Hermens HJ, Frerik B, Merletti R, Stegeman D, Blok J, Rau G, Disselhorst-Klug C, Hägg G. *European Recommendations for Surface ElectroMyoGraphy, 1999, Rosseigh Research and Development*, vol 8, pp. 13-54.
- [5] Burns A, Greene B, McGrath M, O'Shea T, Kuris B, Ayer S. y otros, SHIMMER™ – A Wireless Sensor Platform for Noninvasive Biomedical Research, *IEEE Sensors J.*, vol. 10, n.º 9, 2010, pp. 1527-1534
- [6] Estrada L, Torres A, Sarlabous L, Jané R. Evaluating Respiratory Muscle Activity using a Wireless Sensor Platform, *2016 38th Annual International Conference of IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, Orlando, FL,USA,2016, pp.104-108.

DetECCIÓN DEL RETORNO DE LA CIRCULACIÓN ESPONTÁNEA EN BASE AL ELECTROCARDIOGRAMA

A. Elola¹, E. Aramendi¹, J. Del Ser^{1,2,3}, E. Alonso⁴, U. Irusta¹

¹ Dpto. Ingeniería de Comunicaciones, UPV/EHU, Bilbao, aelola001@ikasle.ehu.eus

² TECNALIA, Derio, Bizkaia ³ Basque Center for Applied Mathematics (BCAM), Bilbao

⁴Dpto. Matemática Aplicada, UPV/EHU, Bilbao

Resumen

La identificación de la ausencia de pulso es crucial para dar una respuesta rápida al paciente en parada cardiorrespiratoria. Actualmente no existen métodos de diagnóstico automático en un entorno donde sólo se dispone del electrocardiograma (ECG) y de la impedancia adquirida por el desfibrilador.

En este trabajo se evalúa el potencial del ECG para discriminar entre ritmos regulares con y sin pulso. Se analizan 14 parámetros propuestos en la literatura con una base de registros extrahospitalarios, y se aplican cuatro técnicas de clasificación. Los resultados que se obtienen son prometedores, con valores de sensibilidad y especificidad cercanos al 90% para el mejor de los clasificadores.

Este método de discriminación de ritmos con pulso podría ser integrado en desfibriladores comerciales con independencia de las características de la señal de impedancia adquirida.

1. Introducción

La intervención temprana es crucial en el tratamiento del paciente en parada cardiorrespiratoria, que se reconoce porque está inconsciente, no respira y no presenta signos de circulación espontánea. Tras demostrarse que la palpación en la carótida es ineficaz y consume tiempo, las actuales guías de resucitación recomiendan la observación continua del paciente como método de reconocimiento de ausencia de circulación espontánea [1]. Es un método éste que no se ha probado más eficiente que la palpación en la carótida, por lo que en la actualidad tanto el personal lego como profesionales sanitarios tienen problemas para reconocer la ausencia de circulación espontánea [2, 3]. En el entorno del soporte vital básico donde sólo se dispone del apoyo de un DEA (Desfibrilador Externo Automático) sería deseable que pudiera proporcionarse alguna ayuda al rescatador en el reconocimiento del retorno de la circulación espontánea (RCE), sobre todo en paradas extrahospitalarias.

Los DEAs analizan el ritmo del paciente proporcionando, en su caso, la desfibrilación eléctrica de los ritmos letales. Para ello adquieren a través de los parches de desfibrilación la señal ECG (electrocardiograma), utilizada por el algoritmo de detección de ritmos desfibrilables, así como la impedancia torácica (IT) utilizada originariamente para identificar la correcta colocación de los parches en el paciente. En los últimos años se han propuesto métodos de procesado de estas señales que identifiquen si el paciente tiene un ritmo con pulso (PR, pulse-generating rhythm) o un ritmo sin pulso

(PEA, pulseless electrical activity). Ante un ritmo organizado, ECG con complejos QRS regulares, se ha demostrado que la impedancia muestra fluctuaciones medibles cuando los latidos son hemodinámicamente efectivos [4]. Estos métodos, basados en el ECG y la IT [5, 6], o exclusivamente en la IT [7, 8], requieren de una señal IT continua de muy buena resolución en amplitud, ya que las fluctuaciones ligadas a una PR son muy pequeñas, inferiores a 100 mΩ normalmente. La señal de IT adquirida por los DEAs comerciales no siempre satisface esa característica, por lo que sería imposible integrar los métodos de detección de circulación espontánea en dichos aparatos.

Estos hechos han motivado la realización de este trabajo donde se analiza el potencial de usar exclusivamente el ECG para detectar la presencia de un ritmo con pulso en un paciente en parada cardiorrespiratoria. Se describe una serie de parámetros que caracterizan la forma de onda del ECG propuestos en la literatura, para los que se plantea una selección secuencial y varios clasificadores: 1- *Nearest Neighbour*, *Support Vector Machine* y *Extreme Learning Machine*. Se evalúa el potencial de dichos métodos para la discriminación de ritmos PR de ritmos PEA. Estos métodos podría integrarse en cualquier AED y ayudar tanto a la detección de la parada en un primer instante, como al reconocimiento del RCE durante las resucitación cardiopulmonar (RCP).

2. Materiales

La base de datos de prueba se ha extraído de registros de paradas cardíacas extrahospitalarias. Los episodios, uno por paciente, se registraron con el monitor/desfibrilador Philips HeartStart MRx, y contienen la señal ECG muestreada a 250 Hz, con una resolución de 1.03 μV, y un ancho de banda de 0.05-50 Hz. Los segmentos PR y PEA extraídos corresponden a intervalos de al menos 5 s, libres de artefactos debidos a la RCP (comprobado en la IT) y que presentan un ECG con ritmo organizado. Tres expertos realizaron la extracción y clasificación de los segmentos en base a la extensa información clínica disponible, y apoyándose en la señal de capnografía cuando fue necesario. La información clínica se extrajo del registro prehospitalario del paciente que incluía: (1) el instante en el que se detecto RCE por primera vez en el escenario de la parada en base al pulso palpable en cualquiera de las venas, (2) información sobre la pérdida

de la circulación espontánea antes del ingreso en el departamento de emergencias, y (3) estado final del paciente (expira en el lugar de la parada, expira en el departamento de emergencias, expira tras la admisión en el hospital o recibe el alta hospitalaria). Una descripción más detallada del proceso de anotación de las señales, incluyendo el criterio aplicado en caso de discrepancia y el uso que se hace de la señal de capnografía se halla en [6].

La base obtenida consta de un total de 1091 segmentos extraídos de 158 pacientes: 750 PRs, con una duración mediana (IQR) de 8.0 (6.5-11.0) s y 341 PEAs, duración 9.7 (7.1-13.8) s. Para el desarrollo del detector de RCE se separó la base, de manera aleatoria y sin solape de pacientes, en base de entrenamiento (60%) y base de test (40%). En la Fig. 1 se muestran varios ejemplos de segmentos considerados en el estudio.

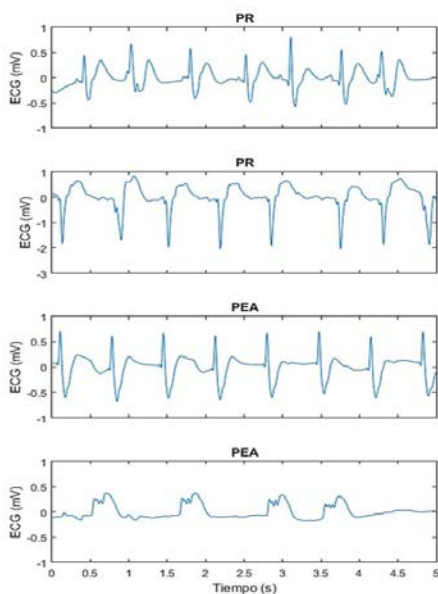


Figura 1. Ejemplos de los segmentos PR y PEA de la base de señales.

3. Métodos

La señal ECG fue preprocesada con un filtro paso banda Butterworth orden 6, con banda de paso 0.5-30 Hz, para eliminar las variaciones de la línea base y los ruidos de alta frecuencia. A continuación se aplicó el detector de QRS propuesto por Hamilton y Tompkins [9] para fijar los instantes del pico de la onda R; los instantes offset y onset se fijaron de manera sencilla a partir de los instantes R y los cambios de signo de la primera derivada del ECG.

3.1. Parámetros del ECG

Cada segmento de señal ECG se caracterizó con un vector $v = [v_1, v_2, \dots, v_{14}]^T$ de 14 parámetros extraídos de su forma de onda.

Se describen a continuación cada uno de los parámetros, y se indica las referencias donde puede encontrarse una descripción del método aplicado para su cálculo:

v_1 y v_2 : Mediana y varianza de la frecuencia cardíaca (Hz) calculada a partir de los instantes R [5].

v_3 y v_4 : Duración mediana del QRS y su varianza (s) calculada a partir de los instantes onset y offset [5].

v_5 y v_6 : Área por muestra de las muestras positivas y negativas, respectivamente, de la amplitud de la forma de onda (mV·s) [6].

v_7 : Media del valor absoluto de la amplitud de la forma de onda del segmento ECG (mV) [5].

v_8 y v_9 : Mediana y varianza de la amplitud de la forma de onda normalizada entre 0 y 1 (mV) [5].

v_{10} y v_{11} : Mediana y varianza de la longitud de la señal calculada a partir de la componente de fase mínima del segmento ECG (mV) calculada del [5].

v_{12} y v_{13} : Frecuencia central (Hz), calculada como la frecuencia que divide el área de la densidad espectral de potencia en dos, y la potencia central (mV²) [10].

v_{14} : Mediana de la amplitud pico-valle del QRS en cada latido (mV) [6].

3.2. Validación cruzada y selección de parámetros

Para definir los parámetros que mejor se adaptan a la discriminación PR/PEA se ha aplicado la técnica de validación cruzada a las muestras de la base de entrenamiento utilizando 5 grupos (5-fold cross-validation, usando conjuntos disjuntos de validación) para evitar que el modelo se sobreajuste.

Se ha realizado la selección secuencial hacia atrás de los parámetros aplicando el criterio de máxima especificidad, Sp , calculada como el número de muestras de PEA correctamente clasificadas. Los parámetros se han retirado uno a uno hasta obtener una disminución de la Sp . El modelo así obtenido es aplicado a la base de test, y evaluado en términos de Sp , Se (porcentaje de segmentos PR correctamente clasificados), precisión balanceada ($BAC = (Se + Sp) / 2$) y AUC (Area Under the Receiver Operating Curve).

3.3. La clasificación

Para la clasificación binaria final de los segmentos como PR/PEA se han comparado tres clasificadores diferentes.

El *1-Nearest-Neighbor* (1-NN) utiliza el vector v de todas las muestras de la base de entrenamiento. A cada muestra se le asigna la clase, PR o PEA, de la muestra más cercana según el criterio de mínima distancia euclídea.

El *Support Vector Machine* (SVM) se ha aplicado para la clasificación binaria PR/PEA. Se ha utilizado el conjunto de muestras de la base de entrenamiento $(v_1, y_1) \dots (v_N, y_N)$, donde v_i es real correspondiente al vector de datos de la muestra i , e $y_i = \pm 1$. La función de discriminación viene dada por:

$$f(\mathbf{v}) = \sum_{i=1}^N \alpha_i k(\mathbf{v}, \mathbf{v}_i^T) + b$$

siendo $k(\mathbf{v}, \mathbf{v}_i^T)$ la función del núcleo, N el número de muestras de entrenamiento, $N = 654$, y α_i y b coeficientes que se estiman durante el proceso de entrenamiento. Se considera PR en el caso de que la función de discriminación sea mayor que cero, en caso contrario, se considera PEA. Se han implementado el núcleo lineal (SVM_{lin}) y el núcleo gaussiano (SVM_{gauss}).

El Extreme Learning Machine (ELM) se inspira en la estructura de perceptrones multicapa, y se basa en ajustar los pesos (\mathbf{w}) y las polarizaciones (b) de los nodos aleatoriamente [11]. Se calcula así la matriz de la capa oculta (\mathbf{H}) de la siguiente manera:

$$\mathbf{H} \triangleq \begin{bmatrix} g(\mathbf{w}_1 \mathbf{v}_1 + b_1) & \cdots & g(\mathbf{w}_M \mathbf{v}_1 + b_M) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ g(\mathbf{w}_1 \mathbf{v}_N + b_1) & \cdots & g(\mathbf{w}_M \mathbf{v}_N + b_M) \end{bmatrix}$$

Donde $g(\bullet)$ es la función de activación (sigmoide en este caso) y M el número de nodos en la capa oculta (60 en nuestro caso). Después se calculan los pesos de la salida:

$$\beta = \mathbf{H}^\dagger \mathbf{y}$$

donde \mathbf{H}^\dagger denota la matriz pseudo-inversa de Moore-Penrose de la matriz \mathbf{H} .

La función de discriminación, considerando la sigmoide como función de activación, viene dada por:

$$f(\mathbf{v}) = \sum_{i=1}^M \beta_i \frac{1}{1 + e^{-\mathbf{w}_i \cdot \mathbf{v} + b_i}}$$

4. Resultados

La Tabla 1 muestra los valores, mediana y cuartiles de los parámetros calculados para el grupo de ritmos PEA y PR, junto con el AUC para la base de test. Los parámetros relacionados con la longitud de señal (v_{10}), la frecuencia central (v_{12}) y la amplitud de los complejos QRS (v_{14}) mostraron la mayor capacidad discriminativa con AUC superior al 0.8.

En la Tabla 2 se indican los valores de Se, Sp y BAC para cada clasificador implementado optimizado el punto de funcionamiento según el criterio de máxima BAC. Los mejores valores de BAC y AUC se midieron con el clasificador SVM_{lin} .

En la Fig. 2 se muestran intervalos de 5 s de segmentos PR y PEA de la base de test; incluye ejemplos correcta e incorrectamente clasificados para cada clase.

Pará.	PEA	PR	AUC
v_1	0.97 (0.64-1.78)	1.77 (1.42-2.12)	0.72
v_2	0.08 (0.00-0.80)	0.02 (0.00-0.13)	0.56
v_3	0.10 (0.07-0.13)	0.07 (0.05-0.11)	0.67
v_4	0.9 (0.1-3.3)10 ⁻³	0.3 (0.0-1.2)10 ⁻³	0.61
v_5	0.4 (0.3-0.7)10 ⁻³	0.7 (0.5-1.0)10 ⁻³	0.73
v_6	0.3 (0.2-0.5)10 ⁻³	0.6 (0.4-0.9)10 ⁻³	0.73
v_7	0.09 (0.05-0.14)	0.16 (0.11-0.21)	0.76
v_8	0.48 (0.33-0.57)	0.43 (0.29-0.56)	0.54
v_9	0.02 (0.01-0.02)	0.02 (0.02-0.03)	0.59
v_{10}	0.34 (0.30-0.37)	0.41 (0.38-0.44)	0.84
v_{11}	0.4 (0.1-1.7)10 ⁻³	0.7 (0.2-1.2)10 ⁻³	0.55
v_{12}	3.55 (2.73-4.79)	6.14 (4.39-8.63)	0.81
v_{13}	4.0 (1.2-8.3)10 ⁻³	5.7 (2.2-1.5)10 ⁻³	0.61
v_{14}	6.71 (3.62-12.7)	17.7 (10.1-30.1)	0.80

Tabla 1. Distribución de los parámetros según mediana (IQR) para cada grupo (PR/PEA), junto al AUC correspondiente.

Clasificador	Se (%)	Sp (%)	BAC (%)	AUC
SVM_{lin}	90.7	87.5	89.1	0.89
SVM_{gauss}	91.7	66.9	79.3	0.78
1-NN	80.7	69.1	74.9	0.78
ELM	86.7	87.1	86.9	0.87

Tabla 2. Resultados de los clasificadores en la discriminación PR/PEA

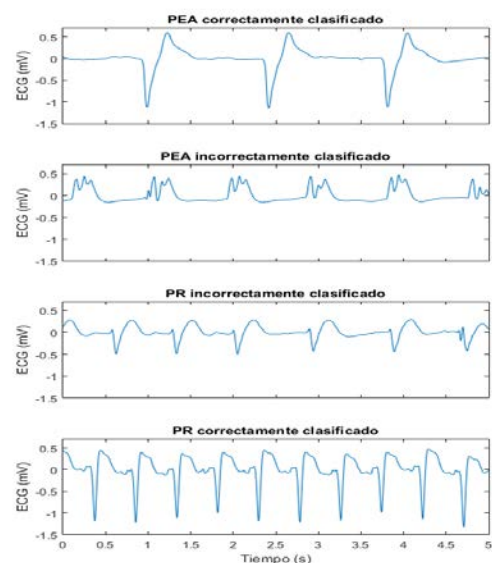


Figura 2. Segmentos PR y PEA correcta e incorrectamente clasificados.

5. Conclusiones

Se ha analizado el potencial del ECG para discriminar entre PEA y PR, lo que permitiría identificar el RCE en una parada cardiorrespiratoria utilizando exclusivamente la señal adquirida por los parches de desfibrilación.

Se han evaluado los parámetros de la forma de onda propuestos por otros autores, con una base de segmentos extraídos de episodios extrahospitalarios de parada cardiorrespiratoria. En general un ritmo sin pulso, se asocia a ritmos más lentos, más irregulares, de menor amplitud y con complejos QRS más anchos que los asociados a un ritmo con pulso. En este estudio, varios de los parámetros alineados con estas características mostraron una capacidad discriminativa con AUC superiores a 0.8. Los clasificadores propuestos, permitieron aumentar el AUC hasta 0.89, con Se/Sp de 90.7/87.5% para el SVM_{lin}.

Creemos que estos prometedores resultados podrían ser mejorados introduciendo nuevos parámetros que cuantifiquen en distintos dominios las características distintivas entre ritmos PEA y PR.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad de España (TEC2012-31928), conjuntamente con el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) a través del proyecto TEC2015-64678-R, y por la UPV/EHU a través de la unidad UF11/16.

Referencias

- [1] Bossaert L, Handley A, Marsden A, et al. *European Resuscitation Council guidelines for the use of automated external defibrillators by EMS providers and first responders: a statement from the Early Defibrillation Task Force*. Resuscitation 1998, 37, pp 91–4.
- [2] Perkins GD, Stephenson B, Hulme J, Monsieurs KG. *Birmingham assessment of breathing study (BABS)*. Resuscitation 2005, 64, pp 109–13.
- [3] Ruppert M, Reith MW, Widmann JH, et al. *Checking for breathing: evaluation of the diagnostic capability of emergency medical services personnel, physicians, medical students, and medical laypersons*. Ann Emerg Med 1999; 34, pp 720–9.
- [4] Losert H, Risdal M, Sterz F, et al. *Thoracic-impedance changes measured via defibrillator pads can monitor signs of circulation*. Resuscitation 2007, 73, pp 221–8.
- [5] Risdal M, Aase SO, Kramer-Johansen J, Eftestøl T. *Automatic identification of return of spontaneous circulation during cardiopulmonary resuscitation*. IEEE Trans Biomed Eng 2008, 55, pp 60–8.
- [6] Alonso E, Aramendi E, Daya M, et al. *Circulation detection using the electrocardiogram and the thoracic impedance acquired by defibrillation pad*. Resuscitation 2016, 99, pp 56-62.
- [7] Cromie NA, Allen JD, Navarro C, Turner C, Anderson JM, Adgey AAJ. *Assessment of the impedance cardiogram recorded by an automated external defibrillator during clinical cardiac arrest*. Crit Care Med 2010, 38, pp 510–7.
- [8] Ruiz J, Alonso E, Aramendi E, et al. *Reliable extraction of the circulation component in the thoracic impedance measured by defibrillation pads*. Resuscitation 2013, 84, pp 1345–52.
- [9] Hamilton PS, Tompkins WJ. *Quantitative investigation of QRS detection rules using the MIT/BIH arrhythmia database*, IEEE Trans. Biomed. Eng., 1986, 33, pp 1157-65.
- [10] Alonso E, Eftestøl T, Aramendi E, et al. *Beyond ventricular fibrillation analysis: Comprehensive waveform analysis for all cardiac rhythms occurring during resuscitation*. Resuscitation 2014; 85, 1541-1548.
- [11] G.-B. Huang, Q.-Y. Zhu, and C.-K. Siew, *Extreme learning machine: Theory and applications*, Neurocomputing 2006, 70, no. 1–3, pp. 489–501.

Contacto

Andoni Elola Artano
 Dpto. Ingeniería de Comunicaciones
 Ald. Urquijo s/n 4013 Bilbao
 Email: aelola001@ikasle.ehu.es

Análisis de las limitaciones técnicas de las Google Glass en su aplicación en soluciones médicas

M. Escribà Del Arco¹, J.L Bayo-Montón¹, A. Martínez-Millana¹, V. Traver¹

¹ ITACA, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, {miesde,jobamon,anmarmil,vtraver}@itaca.upv.es

Resumen

Las Google Glass se han presentado como una herramienta novedosa que facilitará el acceso a información y la realización de tareas complejas. Pese desistimiento de Google en dar soporte al producto, en la actualidad existen múltiples aplicaciones e investigaciones en curso que tratan de analizar el potencial impacto que el uso de esta tecnología puede tener en distintos campos de la medicina. Entre las aplicaciones más comunes se encuentra el acceso a información de la historia clínica electrónica, visualización de monitorizaciones, apoyo a la decisión y consulta remota en especialidades que abarcan desde la oftalmología hasta la cirugía y la docencia. No obstante, la evidencia científica destaca una serie de limitaciones técnicas importantes en su uso, como por ejemplo fallos en la conectividad, deficiente recepción de imágenes y reinicio automático del dispositivo. El presente artículo presenta un estudio técnico sobre las mencionadas limitaciones (latencia, memoria y disponibilidad) con el propósito de categorizar e identificar las fuentes de fallos. Los resultados obtenidos nos han permitido obtener una base de requisitos sobre la que definir las aplicaciones de medicina que eviten la aparición de los mencionados fallos técnicos asociados al uso de las Google Glass.

1. Motivación

Vivimos en una época en la cual la pirámide poblacional está invertida, lo cual aumenta la necesidad de disponer de un mejor sistema sanitario que pueda dar cobertura a las amplias abanico de necesidades que genera este cambio [1]. De entre todas las mejoras que se están desarrollando en este ámbito, una de las más importantes, sobre todo desde el punto de vista de las tecnologías de la información, es la conocida como e-salud.

La e-salud consiste en la aplicación de las tecnologías de la información al ámbito de la medicina, desde proporcionar información a los pacientes sobre su enfermedad y sus medicamentos en cualquier lugar hasta la transmisión de datos recopilados por sensores situados en el paciente y su entorno al médico. En este contexto, las Google Glass (Google Inc. Mountain View) son un dispositivo que puede resultar muy útil en aplicaciones médicas, pues permiten presentar de forma simple y ergonómica información en tiempo real a través de una conexión a internet.

Las Google Glass fueron desarrolladas por Google X [2], unas instalaciones de Google dedicadas a desarrollar productos tecnológicos. Los primeros prototipos datan de

2011 y eran muy pesados, pero durante los siguientes años se redujeron enormemente de tamaño.

La primera publicación se produjo a principios de 2013. En esta fecha se realizó un sorteo en el que se eligió a los primeros 8000 individuos que podrían comprar el producto en fase de pruebas para más tarde, el 15 de mayo de 2014, pasar a una fase beta más abierta en la que el público general podía acceder a estas gafas [3]. Tras esto, las Google Glass empezaron a recibir críticas e incluso acciones legales debido a la preocupación con la facilidad que tenía este dispositivo para vulnerar la privacidad del público, al tener la capacidad de tomar fotos y grabar video discretamente, además de poder ser utilizadas junto con software de reconocimiento facial para identificar a desconocidos, lo cual generó cierta controversia.

La literatura aglutina numerosas experiencias de desarrollo, prueba y evaluación de soluciones médicas que emplean las Google Glass en múltiples campos de la medicina. Entre las aplicaciones más extendidas se encuentra la cirugía [4-6], la oftalmología [7,8], la cardiología [9], emergencias [10] y práctica clínica [11]. La mayoría de los estudios publicados presentan resultados prometedores pero enumeran una serie de limitaciones a la hora de emplear las Google Glass. El impedimento más destacado por los autores es la limitada duración de la batería en uso autónomo, cuya duración es inferior a los 60 minutos [12]. Así mismo, estudios de evaluación y comparación con tecnologías similares (p. ej.: Go Pro® Hero) revelan limitaciones en la calidad de las imágenes y la imposibilidad de indicar puntos de interés en imágenes con tan baja resolución, lo cual dificulta su interpretación. Otro de los factores que indican los estudios son relativos a la seguridad y privacidad de los datos (imágenes, textos y sonidos) que capturan y almacenan las Google Glass [13]. Por último, numerosos estudios aquejan fallos técnicos en la transmisión y creación de imágenes y errores en las comunicaciones (pérdida de conexión) y reinicio del dispositivo durante el uso del dispositivo.

Es evidente que gran parte de las limitaciones en el uso médico de las Google Glass vienen dadas por aspectos técnicos, pero en qué medida estos aspectos técnicos son evitables es una incógnita. En este estudio se presenta un análisis de las limitaciones técnicas de las Google Glass empleando para ello una batería de pruebas y un esquema de comunicaciones más ampliamente utilizado, los servicios web con tecnología REST [14]. El objetivo es

cuantificar y detectar las características óptimas en cuanto a fiabilidad, latencia y rendimiento que deben respetarse para poder maximizar las capacidades de las Google Glass y evitar fallos en las comunicaciones.

2. Materiales y Métodos

Las Google Glass son un dispositivo basado en el sistema operativo con particularidades en lo que respecta a la interfaz de usuario y su control. La pantalla de las Google Glass utiliza un proyector LED, que mediante una serie de filtros polarizadores y espejos semi-reflectantes, proyecta una imagen en la parte superior derecha del ojo izquierdo. Esta configuración proporciona la sensación de que la imagen flota en el interior del prisma transparente, sin limitar el campo de visión natural. Esto se puede observar en la figura 1. Esta pieza es ajustable para poder adaptarla a la forma de la cara del usuario y a la distancia del ojo, y asegurar una correcta visualización.

Las Google Glass incluyen también un innovador auricular que, en vez de utilizar el canal auditivo para transmitir el sonido, transmite las vibraciones a través de los huesos del cráneo cercanos al oído. El dispositivo dispone de un botón para hacer fotografías mediante la cámara que lleva incorporada al prisma, con una resolución de 2528 x 1856 en formato jpg y registrar video de 720p en formato mp4 de manera rápida sin tener que navegar por los menús. El almacenamiento disponible en el dispositivo es de 10 GB.

El dispositivo cuenta con una pequeña batería de 570 mAh de litio-polímero, que tiene una capacidad operativa inferior a la hora con uso intensivo y de tres a cinco horas con uso normal.

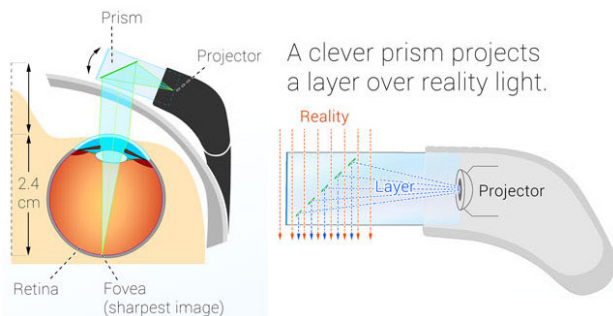


Figura 1. Esquema físico del dispositivo Google Glass (Fuente: Google Glass Inc.)

Las Google Glass disponen de un sistema operativo propietario Android llamado *Glass Ware*. La principal interfaz de las Google Glass es la línea temporal, en la que aparecen, en orden cronológico, los eventos sucedidos como las fotos realizadas, llamadas perdidas, notificaciones recibidas. También dispone de un conjunto de pequeñas funcionalidades como el “*head wake*” que permite despertar el dispositivo con una inclinación de la cabeza, o el “*wink*”, que permite tomar fotos mediante un simple guiño del ojo. Las aplicaciones de las Google Glass son similares a las aplicaciones de Android, utilizando actividades, *layouts*, *widgets*, etc. Mediante el Glass Development Kit (GDK) se integra en estas actividades las particularidades del dispositivo, como el control por voz o las vistas por tarjetas de las gafas, mediante una interfaz de 640 * 360 pixels de resolución.

Respecto a la conectividad, las Google Glass presentan tres interfaces: Wi-Fi, Bluetooth y micro-USB. Para la elaboración de este estudio se empleará el canal de comunicación Wi-Fi, ya que ha sido el empleado en los estudios médicos de la literatura. Las pruebas se han realizado con un servidor IIS basado en el framework .NET 4.5, las Google Glass y una red WLAN cerrada.

Para evaluar las prestaciones técnicas se ha implementado un esquema de comunicaciones basado en conectores REST. Para la implementación del esquema REST se ha utilizado la librería Retrofit [15], un cliente HTTP para Android y java de fácil uso. Su uso consiste en la implementación de métodos propietarios que serán instanciados por una interfaz con anotaciones. Se emplea el método POST con la etiqueta `@BODY` para marcar los parámetros de entrada del método.

El sistema de mensajería empleado ha sido JSON, y para la preservar la compatibilidad con Glass Ware, se ha utilizado GSON [16], una librería de Google para tratar con archivos JSON. La unidad mínima de transferencia o Data Transfer Object (DTO) empleada es un objeto de java simple, que consta de diversas variables y métodos para dar valor y obtener el valor de estas. Como hemos explicado anteriormente la comunicación entre las gafas y el servidor se realizará mediante el uso de la librería Retrofit, que a su vez utilizará la librería GSON para la serialización y deserialización de los JSON utilizados en esta transmisión.

La evaluación propuesta consiste en la realización por triplicado de una batería de pruebas sistemáticas empleando los dos esquemas de comunicación con grupos de 10, 100, y 1000 paquetes de datos, enviados de forma gradual, para monitorizar las siguientes variables:

- Retardo de la comunicación (Latencia)
- Éxito de la comunicación (Fiabilidad)
- Carga computacional en las Google Glass (Rendimiento)

Así mismo, se emplea el banco de imágenes ECLAP de la Universidad de Cornell en formato jpg con distintos tamaños para evaluar el tiempo que emplea las Google Glass en procesar y mostrar las imágenes al usuario.

3. Resultados

En líneas generales el resultado de las pruebas realizadas es satisfactorio, ya que se han detectado puntos de saturación y por lo tanto de pérdida de conexión. Así mismo, se ha podido cuantificar las características en el retardo temporal (latencia), fiabilidad y rendimiento del dispositivo, en función de la cantidad de mensajes enviados y del tamaño de las imágenes intercambiadas.

En las pruebas realizadas, se aprecia conveniencia de la librería GSON para la conversión de tipos de datos conversión sin necesidad de configuraciones adicionales. En el caso de los experimentos realizados, se ha desarrollado un método serializador y un deserializador personalizados que permiten convertir objetos complejos (imágenes) en secuencias alfanuméricas para encapsularlas en mensajes JSON. Así mismo, se destaca la eficiencia de la librería Retrofit, en concreto el método `OkHttp` que

permite a la aplicación funcionar correctamente incluso cuando hay problemas en la red, permitiendo configurar direcciones alternativas en las que realizar las peticiones si las anteriores fallan, para hacer usos de data centers redundantes.

El valor de latencia para esquema REST obtenido en los experimentos es de $62,3 \pm 40,3$ ms. En cuanto a la carga computacional, como se puede ver en la Figura 2 para 10 paquetes, la Figura 3 para 100 y la Figura 4 para 1000, al aumentar en número de mensajes enviados en el bucle aumenta correlativamente el tiempo de recepción.

Respecto a la fiabilidad, en las pruebas de envío de 10 y 100 paquetes, el éxito en la conexión ha sido del 100%. Sin embargo, en el envío de 1000 paquetes la fiabilidad ha sido del $99,91 \pm 0,006\%$.

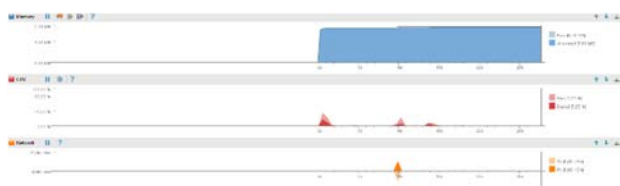


Figura 2. Carga Computacional (Bucle de diez DTOs). En azul la carga de memoria, en rojo la carga de procesador y en naranja la carga de red.

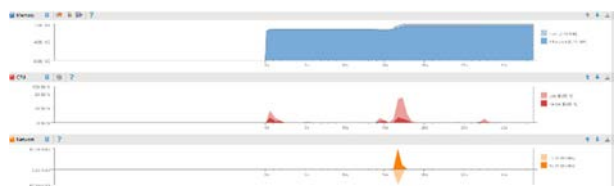


Figura 3. Carga computacional (Bucle de cien DTOs)

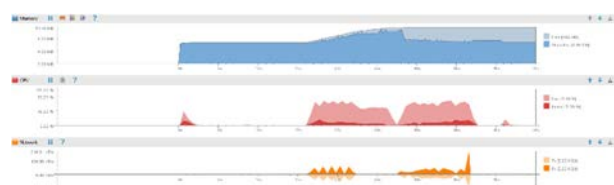


Figura 4. Carga computacional (Bucle de mil DTOs)

Respecto al envío de 1000 paquetes (Figura 4) se observa que aunque la memoria utilizada sigue sin aumentar demasiado, sí que se realiza un uso más intensivo del procesador y que en la red, la transmisión y la recepción es más irregular, realizándose pausas durante el envío y la recepción. Lo cual seguramente sea la causa de los mensajes perdidos.

Respecto a la evaluación de la transmisión de imágenes, los resultados obtenidos para las diferentes imágenes se pueden ver en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**, en la que se observa que el tamaño máximo de la imagen a procesar admisible por el dispositivo es de 2,5MB, siendo el tiempo de procesado de 8 segundos. La cantidad de tiempo mínima que no sobrecargaba el programa y no sobrepasara la cantidad de memoria máxima que una aplicación puede utilizar.

Tamaño de la Imagen	2,5MB	1 MB	668 KB	263 KB
Tiempo de procesado (S)	8	4	2	0

Tabla 1. Retardos mínimos experimentados al enviar imágenes de distintos tamaños

Así mismo, se ha medido también el rendimiento durante la transmisión de las imágenes, comparando el caso peor (2,5MB en la Figura 5) con el caso más favorable (263 KB en Figura 6).

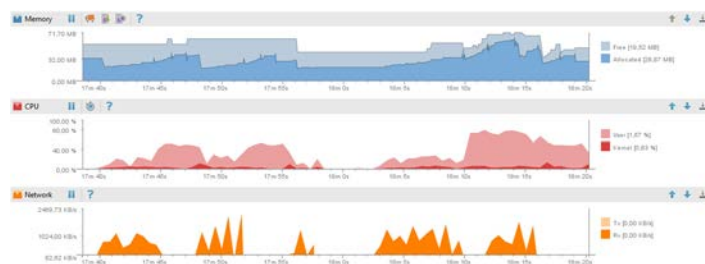


Figura 5. Imagen de 2.5MB

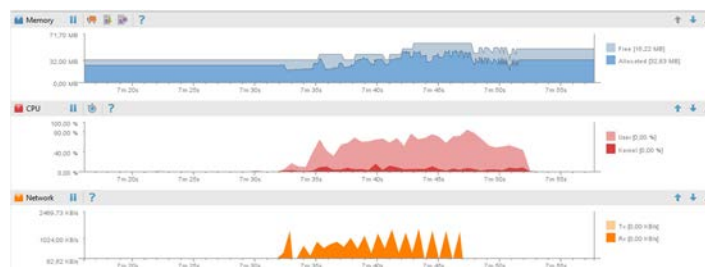


Figura 6. Imagen de 263 KB

En este caso podemos ver una gran diferencia en el uso de memoria entre ambas situaciones. En el caso peor, además tiene algún problema al ser enviada, lo cual hace que el momento en el que se envía sea irregular. Cuando por culpa de uno de estos retardos se acercan las emisiones de la imagen y, por lo tanto, el tratamiento de éstas en las gafas, el uso de memoria aumenta considerablemente, acercándose al límite a partir del cual la aplicación se cierra. Aumentar la distancia temporal entre los envíos probablemente disminuya este problema. Si el servidor hubiera sido algo más regular en el envío de las imágenes, seguramente hubiera sido posible disminuir el tiempo entre imágenes.

En cambio, para el caso más favorable, el dispositivo tiene tiempo suficiente para des-serializar, descomprimir y mostrar cada una de las imágenes que llega, por mucho que se envíen tan rápido como pueda el método del servidor. También se aprecia un considerablemente menor uso de memoria por parte de las gafas.

Para imágenes de tamaño superior a los 2,5 MB la aplicación no podía soportar la recepción de una segunda imagen, pese a asegurarse que el procesamiento de la

imagen haya finalizado. Para imágenes de pequeño tamaño los requerimientos de memoria son muy inferiores. Además, debido a la resolución de la pantalla tampoco sería útil el uso de imágenes de gran resolución.

4. Discusión

En este artículo se ha analizado y cuantificado algunas de las limitaciones técnicas más extendidas en estudios previos de aplicación de las Google Glass en campos de la medicina, evaluando métricas objetivas de latencia, fiabilidad y carga computacional en el envío de paquetes de datos e imágenes de distintos tamaños.

Mediante los experimentos realizados se constata el problema de pérdida de conexión, y los resultados obtenidos permiten determinar que el fallo real experimentado en la literatura sea un error *OutOfMemory*, pues la memoria del dispositivo está muy limitada y el efecto de éste es que se la aplicación se cierre sin mostrar nada por pantalla y vuelva al menú principal

Las librerías utilizadas para la comunicación, GSON y Retrofit, han demostrado ser realmente sencillas y versátiles a la hora de realizar aplicaciones que se comuniquen con las Google Glass. GSON nos ha permitido personalizar la serialización y la des-serialización de los objetos de datos para su envío.

Los resultados obtenidos muestran que la conexión de las Google Glass con el servidor es posible mediante el esquema de servicio web (tecnología REST), pero que hay que tener cuidado con las limitaciones del dispositivo, especialmente la memoria disponible para una aplicación.

En estas pruebas, centradas en el comportamiento ante el envío masivo de mensajes y envío de mensajes de tamaño relativo, se ha evidenciado las limitaciones en la capacidad de procesamiento de las Google Glass sin comprometer su fiabilidad. La principal limitación que se ha encontrado es la cantidad de memoria que las Google Glass permiten utilizar a una aplicación. Además, también hemos medido el retardo de la conexión entre el servidor y el dispositivo enviando mensajes vacíos. Debemos mencionar que todas las pruebas se han hecho de la red de comunicaciones de la *Universitat Politècnica de València*, con unas capacidades tan elevadas que no afectan al rendimiento y resultados obtenidos en las pruebas, extremo que debería ser valorado en siguientes experimentos. No obstante, de estos resultados podemos concluir que el tamaño de los datos enviados a las gafas es un factor crucial que tenemos que vigilar e intentar reducir al máximo.

5. Conclusiones

La fiabilidad, latencia y calidad de la conexión mediante servicios web al dispositivo Google Glass depende de las características técnicas de las comunicaciones que se deseen mantener. Para aplicaciones médicas, es importante conocer el tipo de tráfico que soportará la aplicación o sistema para poder garantizar un uso eficiente y eficaz del dispositivo.

Referencias

- [1] Pérez. G, Gotsens M., Palència L. et altres. Protocolo del estudio sobre el efecto de la crisis económica en la mortalidad, la salud reproductiva y las desigualdades en salud en España. *Gaceta Sanitaria*, vol 1304, 2016, pp 1-5
- [2] Página web Tech Crunch, <https://techcrunch.com/2012/04/04/google-project-glas/> (Consultada: Agosto 2016)
- [3] Foro de usuarios Google Plus para Google Glass, <https://plus.google.com/+GoogleGlass/posts/QLD88fE7qmE> (Consultada: Septiembre 2016).
- [4] Davis, Christopher R. D., Lorne K.R. Looking at Plastic Surgery through Google Glass. *Plastic & Reconstructive Surgery*, vol 135, 2015, pp 918-28
- [5] Hashimoto DA, Phitayakorn R., Fernandez-del Castillo C., Meireles O. A blinded assessment of video quality in wearable technology for tele mentoring in open surgery: the Google Glass experience. *Surgical Endoscopy*, vol 30, 2016, pp 372-8
- [6] Liebert CA. Novel Use of Google Glass for Procedural Wireless Vital Sign Monitoring. *Surgical Innovation*, vol 23, 2016, pp 366-73
- [7] Brusie T, Fijal T, Keller A et alters. Usability evaluation of two smart glass systems. *Proceedings of Systems and Information Engineering Design Symposium*, 2015, pp 336-41 (ISBN: 978-1-4799-1832-4)
- [8] Matthew G.J., Naheed W, Branham K, et altres. Expansion of Severely Constricted Visual Field Using Google Glass. *Ophthalmic Surgery, Lasers and Imaging Retina*, vol 47, 2016, pp 486-9
- [9] Jeroudi O, Christakopoulos G.,Christopoulos G, Kotsia A., Kypreos M.A. et altres. Accuracy of Remote Electrocardiogram Interpretation with the Use of Google Glass Technology. *American Journal of Cardiology*, vol 115, 2015, pp. 374-7
- [10] Cicero M., Walsh B., Solad Y., Whitfill T. et altres. Do You See What I See? Insights from Using Google Glass for Disaster Telemedicine Triage. *Prehospital and Disaster Medicine*, vol30, 2015, pp. 4-8
- [11] Wu. S.T., Dameff C.J., Tully J.L. Ultrasound-Guided Central Venous Access Using Google Glass. *Journal of Emergency Medicine*, vol 47, 2014, pp. 668-678
- [12] Lewis TL, Vohra RS. Smartphones Make Smarter Surgeons. *British Journal of Surgery*, vol 101, 2014, 296-7
- [13] Albrecht V, von Jan U., Kuebler J., Zoeller C., et altres. Google Glass for Documentation of Medical Findings: Evaluation in Forensic Medicine. *Journal of Medical Internet Research*, vol 16, 2014, e53
- [14] Zou, G., Gan, Y., Chen, Y. et al. "Towards automated choreography of Web services using planning in large scale service repositories" *Applied Intelligence*, Volume 41, 2014, pp 383-404
- [15] Librería Retrofit, <http://square.github.io/retrofit/> (Consultada: Agosto 2016)
- [16] Guía de Uso de la librería GSON, <https://sites.google.com/site/gson/gson-user-guide> (Consultada: Agosto 2016)

EmERGE project: Evaluating mHealth technology in HIV to improve Empowerment and healthcare utilisation

P. Chausa^{1,2,3}, E.J. Gómez^{1,2,3}, L. Apers⁴, F. Henwood⁵, S. Mandalia⁶, E. Wallitt⁷, A. León⁸, J. Begovac⁹, M. Borges¹⁰, A. Brown¹¹, K. Block¹², B. Glaysher¹³, J. Whetham¹⁴

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, Universidad Politécnica de Madrid {pchausa,egomez}@gbt.tfo.upm.es

² Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), España

³ Centro de Tecnología Biomédica (CTB), Madrid, España

⁴ Department of Clinical Sciences, Institute of Tropical Medicine, Antwerp, Belgium, lapers@itg.be

⁵ School of Applied Social Science, University of Brighton, United Kingdom, f.henwood@brighton.ac.uk

⁶ The National Prospective Monitoring System, NPMS-HHC-CIC, s.mandalia@imperial.ac.uk

⁷ Podmedics, United Kingdom, edwallitt@me.com

⁸ Infectious Diseases Department, Fundacio Privada Clinic per a la Recerca Biomedica, España, aleon@clinic.cat

⁹ Reference Center for HIV/AIDS, Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević", Croatia, josip.begovac@gmail.com

¹⁰ Internal Medicine, Centro Hospitalar de Lisboa Central, EPE, Portugal, borges.margarida@chlc.min-saude.pt

¹¹ mHealth Futures, United Kingdom, adrian.brown@mhealthfutures.com

¹² European Aids Treatment Group, Belgium, koen.block@eatg.org

¹³ Kite Innovation, United Kingdom, emerge@kiteinnovation.com

¹⁴ Department of HIV/ Genito-Urinary Medicine, Brighton and Sussex University Hospitals NHS Trust, United Kingdom, jennifer.whetham@bsuh.nhs.uk

Abstract

The EmERGE project (<http://www.emergeproject.eu/>) will develop a mHealth platform to enable self-management of HIV in patients with stable disease. The platform will build upon and integrate the existing mHealth solutions operated by pioneering healthcare providers in the UK and Spain and apply a rigorous co-design approach to ensure patient and clinician input to the solution. The platform will provide users with web based (clinicians) and mobile device applications (patients) which interface securely with relevant medical data and facilitate remote access to key healthcare providers. EATG, the leading European HIV patient organisation, will provide a direct and deep interaction with representative patients and clinicians from 5 EU countries. The platform and interfaces will be validated in a large study of 3900 patients using a tailored Health Technology Assessment process: the Model for Assessment of Telemedicine applications, specifically developed for the assessment of mHealth solutions including translatability as a key factor.

1. Introduction

With the advent of effective antiretroviral therapy (ART) HIV is now regarded as a chronic illness with a normal life expectancy in individuals who have access to testing, treatment and care as in the European Union [1]. The vast majority of individuals have undetectable HIV viral loads (the aim of ART) on stable treatment and now seek to reduce the impact of HIV on their lives.

Individuals living with HIV are currently seen by an HIV clinician every 3-6 months according to national and international guidelines [1]. Given that the number of new

diagnoses and onward transmissions are at best stable, if not increasing [2], in association with longevity, the number of patients requiring treatment and care continues to increase year on year. In the current era of austerity there is little or no additional resource to manage this increasing workload without a substantial increase in capacity which is unlikely to be forthcoming. Therefore it is imperative that new models of service provision are explored and evaluated.

mHealth solutions offer an opportunity to provide alternatives to traditional care that can reduce appointments for stable patients and increase capacity to those living with more complex disease. A key recommendation from a recent review of literature on mHealth for HIV treatment and prevention [3] was the need to provide actionable evidence on how to improve HIV care through incorporation of mHealth solutions integrating technologies into existing programs rather than using (to date) externally driven, isolated projects.

In this regard, the EmERGE project will develop a mHealth platform which will be integrated with clinic ICT systems and which will be used to reduce face-to-face appointments in patients living with stable HIV and to complement appointments in those with more complex medical needs.

2. EmERGE platform requirements

The EmERGE project have performed a situational analysis and background assessment to inform the

development of a mHealth platform in HIV. The main objectives were:

- assess clinical settings and models of HIV care in clinical sites
- assess the ICT infrastructure and data security requirements in clinical sites and countries, and
- assess data already captured to assist the health economic analysis

This process has allowed us to get a detailed idea how people living with HIV currently are followed up in the five clinics that participate in the study. Various aspects were recognised: which activities at present guarantee the medical and psycho-social follow-up, which cadres are involved, which laboratory tests are done, which other investigations are possible, who pays for all of this, what kind of patient file is used, how are data stored, how does communication with other health workers happen etc.

Detailed questionnaires were designed to capture all this information, covering ICT infrastructure and security requirements, HIV-care organization, information governance and the ethical-legal frameworks.

A co-design process has been also performed where people living with HIV (PLWH) and clinicians have expressed their views concerning the design and components of the proposed mHealth platform. There has been a total of:

- 7 workshops with PLWH,
- 20 individual interviews with PLWH,
- 3 mixed workshop with PLWH and clinicians, and
- 3 workshops with clinicians

Through these methods the project have included 97 PLWH and 51 clinicians. Participants deliberated on the core functionalities of the proposed platform and highlighted opportunities and concerns as well as other functionalities that could be useful for managing HIV.

3. EmERGE platform specification

Overall, the goal of the EmERGE platform is to provide relevant, timely and secure delivery of health care data to suitable Patient Users with stable HIV disease through the use of novel mHealth tools. In the case of this project this involves the construction of a 'stack' of software that integrates into pre-existing IT systems in place at each of the clinical sites.

An overview of the proposed stack is shown in Figure 1. The stack fundamentally consists of two applications; the Web Application and the Mobile Application. The Web Application is hosted on a server at each clinical site and provides two services. The Clinical User Application represents the software and associated interfaces that Clinical Users interact with. The API Adapter is a site-specific service provided by the Web Application that provides the necessary interface with local clinical and demographic systems, via their respective APIs.

The Mobile Application is also made up of two components: The Patient User Application and the

Messaging Service. The Patient User Application represents the iPhone or Android application that is used by Patient Users on their mobile devices. The Messaging Service represents the Cloud Service used to relay messages securely from the Clinical User Application to the Patient User Application.

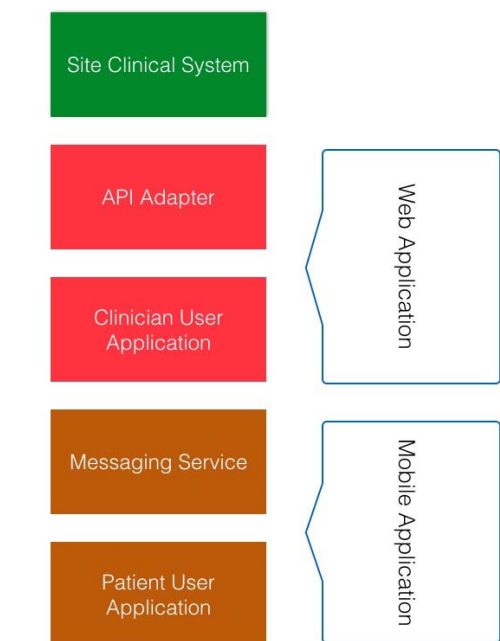


Figure 1. EmERGE platform stack

Regarding the technology involved, the Web Application is being constructed using Ruby on Rails and the Mobile Application with the Ionic Framework. Each clinical site requires an 'API Adapter' as part of the web application. This will be constructed on a site-by-site basis. The recommended messaging languages are JSON and XML. The main communication interface will be through HTTP/1.1 (June, 2014). Use of HTTP over TLS (HTTPS) will be used where possible. The external Messaging Service will be provided by a Cloud Server. Amazon Secure Data Centers utilizing Amazon Service technology with accreditation under ISO 27001. A third party, Firebase (<https://www.firebase.com/>), is considered for use in hosting the infrastructure for passing of messages to the Cloud Server

3.1. Web Application

The main functionalities of the Web Application are:

- **Login:** Clinical Users will require a unique username and password to be able to login to the Web Application.
- **Dashboard:** on successfully logging into the Web Application, Clinical Users should see a dashboard with clear options about potential uses of the system. There will be links to:
 - Add a new Patient User
 - View 'virtual clinic' appointments and calendars
 - View and filter a list of all registered Patient Users

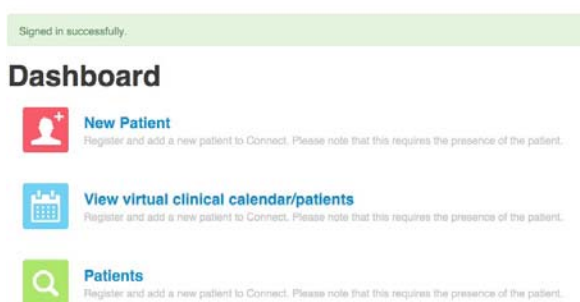


Figure 2. Dashboard of the Web Application

- **Patient User Device Registration:** Registering a Patient User and their associated mobile device is required for them to receive data from the Web Application (through the Messaging Service). The process of registering a Patient User will require the presence of the patient in an appointment setting. Prior to device registration necessary consent should be gained, and relevant documentation signed by both Patient User and Clinical User.
- **All Patients:** In this area of the Web Application Clinical Users will have full access to Patient Users who are registered on EmERGE platform (at their clinical site)
- **Patient User View:** This vital area of the web application is where Clinical User(s) have an overview of each Patient User. It is used during ‘Virtual Appointments’ in order to review data that will be sent to the Mobile Application. It will include:
 - Current Medication List (including name of medication, dose/frequency and date of commencement)
 - Blood Test Results (including viral load, CD4 count, liver and renal function and electrolytes). This data should be shown both graphically and in a table format for easy review.
 - Appointment Lists
- **Virtual Clinic Calendar:** a Virtual Clinic Calendar will be provided to Clinical Users. This provides an overview of when reviews of specific patients are required.

A number of actions may be taken by the Clinical User. These include:

1. Authorisation – this will send the data for the most recent blood tests results and medication lists to the mobile application for the specific Patient User.
2. Re-booking – this will re-book the patient for a future review of medication and blood tests (appointments may be viewed in the calendar).
3. Pausing – this will pause the patient in the system. It is anticipated that this function will be used if the patient requires closer follow-up in person, but they wish to remain on the system.

3.2. Mobile Application

The requirements for the mobile application are:

- **Authentication:** Patient Users will be required to login to the application on each use. This is necessary to conceal the nature of the application in case of phone loss/theft.
- **Dashboard:** the dashboard should provide a single point of entry for a Patient User, allowing them to easily see all options that are available within the Mobile Application. This will include links to:
 - Medication List
 - Blood Test Results (current and historical)
 - Appointments
 - Activities
 - Healthcare Information
 - Account Information

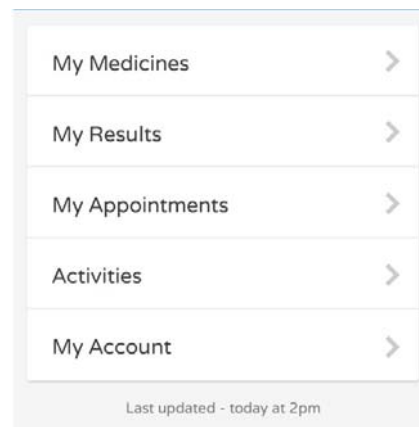


Figure 3 – Dashboard of the Mobile Application

- **Medication List:** this view will show a list of current medications, including dose and frequency. Information about each medicine should be easy to understand for the Patient User, avoiding the user of technical terminology.
- **Results:** blood test result information, both current and historical, will be displayed in this view. This data should be stored locally on the device, having been previously retrieved from the Messaging Service. Only blood test information authorised from the Web Application (following a ‘Virtual Appointment’) will be visible.
- **Appointments:** in this view the Patient User should be able to see information about upcoming appointments. This data should be retrieved from the Messaging Service. Users should be able to add appointment information to their mobile device calendars, and set reminders/alerts.
- **Activities:** the Activities view acts as a comprehensive log of all data transmissions that have been received by the Mobile Application from the Messaging Service. These should be easy to understand for the Patient User, and include the following localized timestamps:
 - Appointment Updates
 - Blood Test Result Updates
 - Medication Updates
 - Access/Registration Updates
- **Account:** this view provides the Patient User with a comprehensive overview of the current status of their account within the EmERGE platform. It should

display whether their account is active or inactive, as well as the date of activation. Patient Users will have options to:

- Turn off mobile-wide notifications
- 'Unlink' their account from the Messaging System (resulting in the account becoming inactive in the web application)
- Erase application data

4. Clinical study design

A large prospective cohort study, undertaken in five European sites will be performed to validate the EmERGE platform which enables self-management of HIV in patients with stable disease using a tailored Health Technology Assessment (HTA) process, Model for Assessment of Telemedicine Applications (MAST) [4]. The MAST approach was developed as part of an EC initiative aiming to provide a structured framework for assessing the effectiveness and contribution to quality of care provided by telemedicine applications and is based on the EUnetHTA core HTA model. MAST provides a framework for an evaluation especially developed for telemedicine, and suited to mHealth. This evaluation will look at a number of aspects including: empowerment, health economics, sociotechnical aspects, clinical outcomes, patient related outcomes and quality of life.

The site recruitment will be sequential and the recruitment period will last 18 months at each site, so a maximum follow-up of 35 months will be undertaken. Study visits will take place at baseline defined as the time of mHealth introduction, months 6, 12, 18, 24 and 30. The five clinical sites involved in the study are:

1. Fundacio Privada Clinic per a la Recerca Biomedica, Barcelona, Spain
2. Brighton and Sussex University Hospitals NHS Trust, Brighton, United Kingdom
3. Institute of Tropical Medicine, Antwerp, Belgium
4. Klinika za infektivne bolesti "Dr. Fran Mihaljević", Zagreb, Croatia
5. Centro Hospitalar de Lisboa Central, EPE, Portugal

5. Conclusions

It is estimated that 86% of EU deaths are now due to a chronic disease [5]. The burden of morbidity and disability is also increasing and disproportionately affecting disadvantaged communities across the EU [6]. It has recently been reported that there are over 97,000 health related apps on the market with 70% targeting fitness and well-being. Apps are used for helplines, improving compliance, appointment reminders, community mobilization, health promotion, raising awareness, telemedicine, surveillance, patient monitoring, information initiatives, decision support system and patient records [7]. Whilst there is interest and enthusiasm for the use of apps, they have yet to enter mainstream healthcare provision [8].

In particular, there is a high uptake rate and use of mHealth in HIV patient populations. In this context, EmERGE will develop a widely usable mHealth platform for the treatment and care of HIV in five European

clinical sites and evaluate the value of the platform using the EU recommended MAST methodology before taking the platform to market. EmERGE aims to demonstrate the benefits to patients and simultaneous increases in cost-effectiveness for healthcare providers by reducing face-to-face consultations.

In the early stage of the project, the EmERGE study is investigating whether mHealth provides an improvement of empowerment and a cost-effective alternative to frequent routine HIV outpatient clinic appointments for patients with well controlled stable HIV infection. Enhanced functions will be explored as part of the co-design process and offer the potential in patients to add to existing healthcare provision by improving interaction and information between different healthcare providers and so personalising HIV outpatient appointments with improved utilisation of multi-disciplinary teams.

Acknowledges



This project has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No 643736.

Referencias

- [1] May M et al; AIDS. 2014 Feb 19. [Epub ahead of print]; Impact on life expectancy of HIV-1 positive individuals of CD4+ cell count and viral load response to antiretroviral therapy: UK cohort study.
- [2] Asboe D, Atken C, Boffito M et al. British HIV Association guidelines for the routine investigation and monitoring of Adult HIV-1 infected individuals 2011 HIV Med 2012, Jan:13(1):1-44
- [3] Catalani et al, The Open AIDS Journal, 2013, 7, 17-41; mHealth for HIV Treatment & Prevention: A Systematic Review of the Literature
- [4] Kidholm, K., Ekeland, A.G., Jensen, L.K., Rasmussen, J., Pedersen, C.D., Bowes, A., Flottorp, S.A. and Bech, M. (2012) 'A MODEL FOR ASSESSMENT OF TELEMEDICINE APPLICATIONS: MAST', International Journal of Technology Assessment in Health Care, 28(1), pp. 44–51. doi: 10.1017/S0266462311000638.
- [5] Tonio, Borg, EU Commissioner for Health, Health EU newsletter 127 – Focus available at http://ec.europa.eu/health/newsletter/127/focus_newsletter_en.htm
- [6] Levett T., Wright J. and Fisher M. HIV and Ageing: What the Geriatrician needs to know. Reviews in Clinical Gerontology. 2014; 24(1):10-24
- [7] mHealth: new horizons for health through mobile technologies. WHO 2012. http://www.who.int/goe/publications/goe_mhealth_web.pdf
- [8] Green paper on mobile health – European Commission 10.4.2014 accessible at <http://ec.europa.eu/digitalagenda/en/news/green-paper-mobile-health-mhealth>

Aplicación de coreografía de servicios para el acceso y gestión de sensores de monitorización de la salud

JL. Bayo-Monton¹, A. Lizondo García¹, A. Martínez-Millana¹, C. Fernández-Llatas¹, V. Traver Salcedo¹

¹ ITACA. Universitat Politècnica de València. Camino de Vera s/n. 46022, Valencia, España {jobamon, arligar, anmarmil, cfllatas, vtraver }@itaca.upv.es

Resumen

Los avances en la tecnología electrónica y en tecnologías de la información y comunicaciones constituyen la palanca de cambio en los nuevos métodos de provisión de servicios de salud. En el campo de la telemedicina, la miniaturización de dispositivos de cómputo y la comercialización de kits para monitorizar variables fisiológicas está promoviendo la creación de soluciones técnicas de muy fácil uso y fiabilidad. No obstante, este tipo de soluciones se diseñan de manera ad-hoc, limitando la escalabilidad, reutilización y flexibilidad de las funcionalidades de adquisición, procesado, comunicación y análisis. En este artículo presentamos un novedoso modelo de comunicación basado en el paradigma de arquitectura orientada a servicios para la reutilización, integración y escalado de sistemas de monitorización de la salud. Para ello, se describen los resultados obtenidos al aplicar la coreografía de servicios sobre un montaje basado en una placa de Arduino y un kit de sensores fisiológicos eHealth.

1. Introducción

Internet of the Things (IoT) hace referencia a la capacidad de gestionar de manera ubicua dispositivos, sensores y actuadores en un entorno multiconectado [1]. Éste concepto se ha extendido a múltiples ámbitos profesionales [2] y personales [3] representando en los últimos años un acusado crecimiento. El sector de la salud no ha quedado al margen del auge del IoT, en el cual ya existen múltiples aplicaciones y servicios que tienen el objetivo de mejorar la calidad de la asistencia sanitaria [4].

Dentro del sector salud, la telemedicina es un campo abonado para la expansión y mejora de las tecnologías IoT [5]. La monitorización remota, destacando los sistemas más accesibles y de bajo coste que permiten llegar a un mayor número de pacientes, y el uso de actuadores ambientales constituyen la vanguardia en la aplicación de este tipo de tecnologías [6].

Existen multitud de sistemas y arquitecturas para monitorizar personas a distancia, la literatura recoge aplicaciones que permiten almacenar los datos recogidos por los sensores comerciales en dispositivos avanzados (móvil, tablet u ordenador) para después generar informes que serán estudiados por los profesionales asistenciales [7]; otro tipo de aplicaciones, envían directamente la información recogida por los aparatos mediante Bluetooth o Wi-Fi a otros dispositivos [8] y otros que la envían directamente a un servidor para su almacenaje en la nube [9]. Estos sistemas ad-hoc permiten la accesibilidad de los

datos de manera remota, sin embargo adolecen de la flexibilidad necesaria para de integrar nuevas aplicaciones o funcionalidades para mejorar sus prestaciones en un entorno tan dinámico como el del IoT.

La arquitectura que proponemos para solucionar este problema de integración está basada en el uso del paradigma de la Arquitectura Orientada a Servicios (SOA) y el modelo de Coreografía de Servicios[10]. En la Coreografía la funcionalidad se obtiene mediante la integración de servicios auto contenidos que cooperan entre sí. Cada servicio aporta su funcionalidad al proceso global para obtener la funcionalidad completa. El uso de este tipo de arquitectura va a permitir la creación de un sistema distribuido que dote de flexibilidad y capacidad de adaptación a los sistemas de monitorización a distancia, independientemente del tipo de dispositivo, y de esta manera evitar la rigidez que plantean los sistemas ad-hoc.

2. Materiales y métodos

A continuación se detallan los componentes utilizados para la prueba de concepto del uso de la coreografía de servicios en el sector de la eSalud.

2.1. Hardware: plataforma E-Health Kit.

Para la adquisición de los datos de monitorización de variables fisiológicas de una persona se empleó la plataforma *E-Health Kit* diseñada por CookingHacks®. Este sistema se conforma por un módulo compatible con las placas Arduino y Raspberry Pi, a la cual se conectan sensores fisiológicos (hasta diez sensores diferentes). La unión de estos dos módulos, permite el desarrollo libre de aplicaciones médicas y biométricas [11]. En este artículo implementamos la coreografía de servicios empleando la placa Arduino UNO.

En el momento del estudio únicamente se disponía de los siguientes siete sensores, al estar los otros tres agotados: temperatura, SpO₂, GSR, posición, EMG, ECG y respiración

2.2. Software: Coreógrafo.

El principal reto para desarrollar una arquitectura distribuida es que sea fácilmente escalable, flexible a los cambios, evoluciones y expansiones, que permita la máxima reutilización del software y hardware de las primeras versiones.

En el campo de los procesos de negocio, múltiples organizaciones están trabajando en base al paradigma SOA para abordar los retos mencionados [12-14]. Dicho modelo ampliamente aceptado en otros sectores de las tecnologías de la información, comienza a coger fuerza en el desarrollo de plataformas orientadas al ámbito de la salud [15].

En base a las definiciones de SOA [12-14], los sistemas que implementa dicha arquitectura están compuestos por servicios y cada servicio se define como unidad de funcionalidad auto-contenida. Además el sistema se encargará de ofrecer mecanismos de comunicación entre los servicios. De esta forma la composición de servicios con funcionalidades concretas, es la que permite ofrecer la funcionalidad completa del proceso, maximizando la escalabilidad y la flexibilidad buscada.

Existen dos aproximaciones para trabajar con SOA: la orquestación de servicios y la coreografía de servicios. La orquestación de servicios es una aproximación centralizada en la que existe un servicio que se encarga de coordinar al resto para ofrecer la funcionalidad del proceso. En el caso de la coreografía, no existe ningún elemento central que coordine el proceso, cada servicio es consciente de su papel en el proceso y colabora con el resto para ofrecer la solución de manera conjunta, siendo esta última aproximación la más adecuada para sistemas distribuidos no centralizados [16].

Para el desarrollo que se presenta en este artículo se ha optado por utilizar la implementación del Motor de Coreografía realizada por el grupo SABIEN y que ha sido presentada con anterioridad en artículos previos [10,17]. Dicho motor implementa las características del modelo SOA y de Coreografía. Además dispone de facilidades extra para el desarrollo rápido de servicios, así como de servicios ya predefinidos: Servicios que permiten la comunicación enviando mensajes de coreografía mediante REST, TCP, Webservice o MSQueue. O Servicios que conectan a sistemas externos como R, Matlab o Drools.

3. Resultados

En este estudio se propone el uso de sistemas de coreografía como elemento integrador que permita la creación de sistemas distribuidos y capaces de cumplir con el paradigma de IoT.

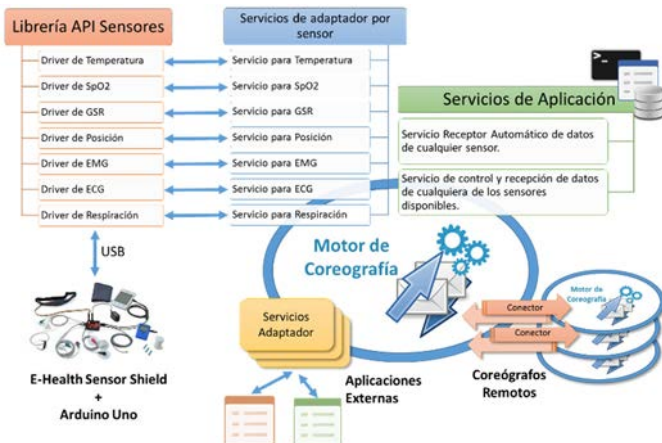


Figura 1. Arquitectura con el motor de coreografía como elemento central.

Para validar este concepto se propone una arquitectura (Figura 1) donde se utiliza como elemento central el motor de coreografía mencionado en materiales y métodos.

Dicho motor serviría como soporte para el desarrollo e integración de los servicios que permiten el control de los sensores, las aplicaciones y/o servicios que utilizan los datos de los sensores, así como de los servicios para utilizar los datos desde aplicaciones externas al coreógrafo. Además por la propia naturaleza del coreógrafo todos estos elementos pueden distribuirse en diferentes coreógrafos interconectados entre sí creando un sistema distribuido que puede ejecutarse en diferentes localizaciones.

Como prueba de la arquitectura descrita se ha realizado una implementación que consta de:

- Sensores: Sistema *E-Health Sensor Shield* conectado a una placa Arduino Uno y en la cual se cargará el software de control proporcionado por defecto por el fabricante.
- Librería *Application Programming Interface* (API): Librería que permite controlar cada uno de los sensores mediante comunicación serie por el USB.
- Servicios de los Sensores: Diferentes servicios para cada uno de los sensores definidos en la Librería API.
- Servicio Aplicación de Visualización: Servicio que es capaz de controlar los diferentes Servicios de los sensores y recibir los datos que estos proporcionan visualizándolos por pantalla.

En el caso del sistema de Sensores se ha optado por no modificar el software de control que proporciona el fabricante para validar la capacidad de integrar sistemas sin tener que adaptarlos.

La librería API y los Servicios de Sensores podrían haberse desarrollado como un único elemento, pero se han dividido en una librería que puede ser utilizada desde cualquier otro programa, de forma independiente del coreógrafo, y una librería de servicios de adaptación a cada sensor, para demostrar la capacidad del coreógrafo de integrar librerías de control ya preexistentes.

Cada uno de los servicios de los sensores comparte unos parámetros de configuración y comandos de control definidos previamente.

Los parámetros de configuración son los siguientes:

- COM: Nombre del puerto serie donde estará conectado el sensor par su comunicación.
- RunOnStart: Indica si el sensor debe iniciarse nada más crear el servicio, los datos capturados los enviará al destino definido en el parámetro "DataReceiver", empleando mensajes de coreografía de tipo evento.
- DataReceiver: Lista separada por punto y coma de los identificadores de los destinatarios a los que se enviarán los datos capturados.

Los métodos son los siguientes:

- bool Measure(bool enable): Método que indica al sensor si debe empezar a capturar datos y enviarlos mediante eventos de coreografía o por el contrario debe para la captura. Los datos comenzarán a enviarse a los destinos indicados en el parámetro de configuración "DataReceiver"
- bool MeasureToMe(bool enable): Método que indica los servicios que se desean suscribir a los destinos de envío por defecto o retirado de esta lista, dependiendo de si "enable" es verdadero o falso.

Mediante esta definición de los servicios de los sensores, es posible plantear diferentes servicios de aplicación que consuman los datos.

El primero que se ha realizado utiliza las bondades del motor de coreografía, el cual permite configurar los servicios desde un único fichero xml. Así pues se configuran los sensores con el parámetro *AutoStart* a verdadero y en el parámetro *DataReceiver* un valor que siga un patrón, por ejemplo "BiometricSensorData.TIPO_SENSOR.NUMERO" que aplicado al sensor de temperatura sería "BiometricSensorData.Temp.001". De esta forma, un servicio que en su configuración indique que recibirá los mensajes con destino el patrón "BiometricSensorData", recibirá los eventos de cualquier sensor del sistema o si queremos restringir solo a sensores de temperatura indicaríamos "BiometricSensorData.Temp".

La Figura 2 muestra un servicio que recibe automáticamente los eventos de cualquier sensor y los muestra en formato texto.

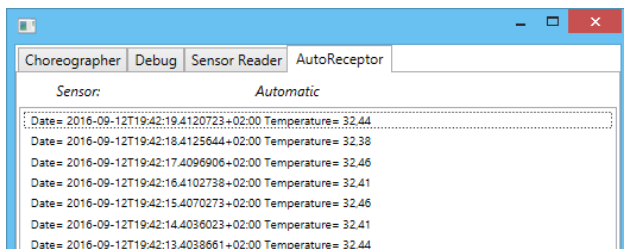


Figura 2. Servicio que recibe automáticamente los eventos de cualquier sensor y los muestra en formato texto.

Utilizando la estructura de los mensajes de coreografía, los datos son enviados como una lista de pares nombre del dato y valor del mismo. Como se aprecia en la Figura 2 los datos cuentan con un campo fijo de tipo marca de tiempo en que se tomó la medida y luego se concatenan el resto de valores.

Con este sencillo mecanismo de configuración del sistema, los sensores pueden iniciarse con la propia plataforma y cualquier servicio/aplicación puede en cualquier momento iniciarse y comenzar a consumir los eventos que desee.

El segundo de los servicios desarrollados es un servicio aplicación que permite desde la interfaz gráfica controlar los diversos servicios sensores mediante los métodos definidos anteriormente. Cuenta con un desplegable donde

seleccionar el sensor a controlar/leer y con una botonera que envía los diferentes comandos definidos.

Los botones "Start Sensor" y "Stop Sensor" envían un mensaje de coreografía al método "Measure" del sensor seleccionado, con el valor "enable" correcto.

Los botones "Subscribe to Sensor" y "Unsubscribe from Sensor" envían el mensaje de coreografía al método "MeasureToMe" del sensor escogido y con el valor "enable" apropiado.

Las respuestas de métodos solicitados al sensor son listadas en la parte inferior de la aplicación, así como la lectura de los eventos con los datos que captura el sensor en formato texto.

Los datos de la medida también son representados en formato de gráficas de evolución como demostración de una lectura semántica de los datos y no como texto sin analizar. En la Figura 4 podemos ver la captura de pantalla que ejemplifica el funcionamiento con los datos recibidos del sensor de temperatura.

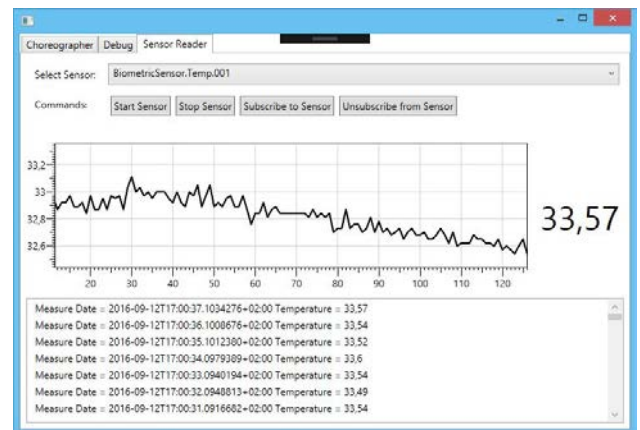


Figura 3. Funcionamiento de la aplicación con los datos recibidos del sensor de temperatura.

4. Discusión

En este artículo se ha presentado una arquitectura de comunicaciones basada en coreografía de servicios para el acceso a datos de salud de manera escalable y flexible. La contribución al estado del arte consiste en la capacidad del coreógrafo para abstraer la capa física (adquisición de los datos mediante sensores) y su encapsulamiento mediante servicios y anotaciones, permitiendo el acceso ubicuo, automático e independiente de la plataforma física a los datos capturados. Experiencias previas [5-6] empleaban arquitecturas ad-hoc basadas en el uso de placas de adquisición de datos orientadas a una determinada interfaz física (p.ej.: puerto serie RS-232) y al desarrollo de la lógica necesaria para acceder a los datos de interés. Por contra, la arquitectura presentada permite acceder a los datos de interés independientemente de la placa de adquisición y de la interfaz, ya que los canales lógicos de acceso a la información se encapsulan como servicios, pudiendo ser instanciados por agentes distribuidos y fuera del entorno del sistema de monitorización.

Para poner en valor la arquitectura propuesta, se ha implementado un prototipo con la placa Arduino y la

extensión de sensores de salud comercializada por CookingHacks® (eHealth kit), ampliamente utilizada por la literatura con sistemas desarrollados con la única finalidad de acceder a los datos de determinados sensores, y presentarlos a agentes conocidos (generalmente un servidor o una aplicación móvil). La solución propuesta permite que cualquier agente, independientemente de su implementación, tipo de tecnología y ubicación, pueda instanciar los servicios de captura de datos del montaje Arduino + eHealth kit.

El uso de un componente como el coreógrafo permite un grado de flexibilidad no observado en la literatura, ya que la arquitectura propuesta es capaz de trabajar con la extensión de CookingHacks®, y cualquier otra que proporcione datos de monitorización sin necesidad de modificar o recompilar. Entre las posibles aplicaciones de nuestra propuesta de arquitectura, destacamos la posibilidad de mejorar los esquemas de conexión distribuida a sensores de salud y sensores ambientales, y la posibilidad de implementar protocolos para el intercambio de datos clínicos que permitan la integración de los datos de salud adquiridos.

5. Conclusiones

La implementación de nuevos esquemas de comunicación basados en la coreografía de servicios en lugar de implementaciones ad-hoc permite la creación de nuevas aplicaciones de IoT flexibles y escalables en el sector de la salud.

Agradecimientos

El trabajo realizado ha sido posible gracias a la financiación de los proyectos EMBLEMA del instituto ITACA de la Universitat Politècnica de València.

Coautora Aroa Lizondo García: Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad: Programa Promoción de Empleo Joven e Implantación de la Garantía Juvenil 2014 (PEJ-2014-A-06813). La actividad subvencionada se enmarca en el Sistema Nacional de Garantía Juvenil y se cofinancian en el marco del Programa Operativo de Empleo Juvenil, con recursos financieros procedentes de la Iniciativa de Empleo Juvenil (IEJ) y del Fondo Social Europeo (FSE) para el periodo de programación 2014-2020.

Referencias

- [1] Wortmann, F., Flüchter, K. Internet of things. *Business & Information Systems Engineering*, vol 57, sup 3, 2015, pp221-224 (ISSN: 0937-6429)
- [2] Russo et al. Exploring regulations and scope of the Internet of Things in contemporary companies: a first literature analysis. *Journal of Innovation and Entrepreneurship* 4:11, 2015, (ISSN: 2192-5372)
- [3] Calvaresi D, Cesarini D, Sernani S, Marinoni M, Dragoni AF, Sturm A, Exploring the ambient assisted living domain: a systematic review. *J Ambient Intell Human Comput*, 2016, pp 1-19 (ISSN: 1868-5145)
- [4] Whitmore A, Agarwal A, Da Xu L. The Internet of Things- A survey of topics and trends. *Information Systems Frontiers*, vol 17, sup 2, 2016, pp 261-274.
- [5] Warren, S. Beyond telemedicine: Infrastructures for intelligent home care technology. *Actas del Pre-ICADI Workshop Technology for Aging, Disability, and Independence*. 2003. pp. 26-27.
- [6] Mečiak, V., Blaho, M., Mrafko, L., & Mudráková, T. Sensor-based platform E-Health connection with Matlab. *Actas del 23 Technical Computing*, Praga, 2015.
- [7] Zainee, N. M., & Chellappan, K. Emergency clinic multi-sensor continuous monitoring prototype using e-Health platform. *Actas del IEEE Conference on Biomedical Engineering and Sciences (IECBES)*, Kuala Lumpur, 2014, pp. 32-37.
- [8] Petrellis, N., Birbas, M., & Gioulekas, F. Precision and power issues in a medical sensor controller. *Actas del 19th Panhellenic Conference on Informatics (PCI'15)*, Athens, 2015, pp. 171-176.
- [9] Nachabe, L., Girod-Genet, M., ElHassan, B., & Jammam, J. M-health application for neonatal incubator signals monitoring through a CoAP-based multi-agent system. *Actas del 3rd International Conference on Advances in Biomedical Engineering (ICABME'15)*, Beirut, 2015, pp. 170-173.
- [10] A. Martinez-Millana, C. Fernandez-Llatas, L. Sacchi, D. Segagni, S. Guillen, R. Bellazzi, and V. Traver, From data to the decision: A software architecture to integrate predictive modelling in clinical settings. *Actas del 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, Milan, 2015, pp. 8161-8164.
- [11] Página web de CookingHacks®. e-Health Sensor Platform V2.0 for Arduino and Raspberry Pi. <https://www.cooking-hacks.com/documentation/tutorials/ehealth-biometric-sensor-platform-arduino-raspberry-pi-medical> (Consultada: Septiembre 2016)
- [12] Página web de The Open Group, The SOA Work Group. <http://www.opengroup.org/getinvolved/workgroups/soa>. (Consultada: Septiembre 2016)
- [13] Página web de OASIS, Advancing Open Standards for the Information Society, OASIS SOA Reference Model Technical Committee. https://www.oasis-open.org/committees/tc_home.php?wg_abbrev=soa-rm (Consultada: Septiembre 2016)
- [14] Página web de OMG, Object Management Group. <http://www.omg.org> (Consultada: Septiembre 2016)
- [15] S. R. Loya, K. Kawamoto, C. Chatwin, y V. Huser. Service Oriented Architecture for Clinical Decision Support: A Systematic Review and Future Directions. *Journal of Medical Systems*, vol. 38, n° 12, 2014, pp. 140 (ISSN: 1573-689X)
- [16] M. Autili, D. Di Ruscio, A. Di Salle, y A. Perucci. CHOReOSynt: Enforcing Choreography Realizability in the Future Internet. *Actas del congreso 22Nd ACM SIGSOFT International Symposium on Foundations of Software Engineering*, New York, NY, USA, 2014, pp. 723-726
- [17] C. Fernández-Llatas, J. B. Mocholí, A. Moyano, and T. Meneu. Semantic Process Choreography for Distributed Sensor Management, *Actas del SSW*, 2010, pp. 32-37.

Algoritmia y eficiencia para valoración clínica de variabilidad cardíaca en monitorización prolongada

F.M. Melgarejo Meseguer¹, E. Everss Villalba¹, Z. Molins Bordallo², F.J. Gimeno Blanes³, J.A. Flores Yepes³, M. Blanco Velasco⁴, J.L. Rojo Alvarez⁵, A. García Alberola¹

¹ Ud. Arritmias, Hosp. Virgen de la Arrixaca, Murcia, España, franmelme@gmail.com

² Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, zaidamb23@gmail.com

³ D. Comunicaciones. Universidad Miguel Hernández, Elche, España, javier.gimeno@umh.es

⁴ D. Teoría de la Señal y Comunicaciones. Universidad de Alcalá, España, manuel.blanco@uah.es

⁵ D. Teoría de la Señal y Comunicaciones. Universidad Rey Juan Carlos, España, joseluis.rojo@urjc.es

Resumen

Existe una serie de mediciones clínicas relevantes que necesitan para su cálculo la detección previa de los complejos QRS del ECG. Como consecuencia, el cálculo rápido y preciso se convierte en un factor clave para cumplir con este objetivo, el cual es especialmente relevante para la enorme cantidad de latidos registrados en monitorización prolongada. Por ello en este trabajo, se analizan nuevos algoritmos de detección de QRS desarrollados al efecto de alta eficiencia computacional y precisión, así como, algunos de los más relevantes en la literatura. Todos los algoritmos implementados fueron probados con gold-standard desarrollado específicamente para este trabajo por el equipo clínico, quienes seleccionaron manualmente cada latido de los 200 registros de Holter de 48 horas del Hospital Virgen de la Arrixaca de Murcia (España), que constituirían nuestra base de datos. El método de procesamiento multiderivación basado en una versión mejorada del algoritmo Pan-Tompkins unido a la función OR, resultó superar en términos de eficiencia computacional y precisión al resto de los algoritmos implementados. Con ello se obtuvo una sensibilidad del 99,2%, una especificidad del 95,6%, una precisión del 97,1% y un tiempo de procesamiento de 77 segundos. En conclusión, la eficiencia y precisión del método propuesto en este trabajo puede proporcionar un algoritmo válido para el procesado efectivo con valor clínico para la monitorización prolongada, donde actualmente otros métodos son válidos.

1. Motivación

El objetivo principal de la monitorización cardíaca es la detección de patologías cardíacas con síntomas transitorios, donde el Holter de 24 horas es el dispositivo más frecuentemente utilizado en entornos clínicos. Para llevar a cabo esta prueba, el paciente debe llevar durante veinticuatro horas consecutivas un dispositivo de registro de la señal electrocardiograma (ECG) de forma continua, mientras realiza sus actividades diarias. En los últimos años diversas investigaciones han demostrado que la monitorización prolongada (MP) es una importante herramienta de pronóstico diagnóstico, si bien presenta dificultades ulteriores de gestión y procesado de tan ingente cantidad de información. En particular parece probado que los indicadores de diagnóstico se pueden observar mejor en periodos de monitorización más largos. Por esta razón, un número de trabajos recientes se han centrado en los protocolos y sistemas MP con periodos de 7 días, 13 días, o 21 días. Dentro de este nuevo escenario, uno de los retos más importantes es la extracción de diferentes parámetros que pueden ser utilizados para mejorar la precisión del

diagnóstico. Los principales retos están por tanto, en la creación de métodos que permitan trabajar con la ingente cantidad de datos provenientes de los dispositivos de MP en otras palabras, estos deben permitir al médico analizar y validar los datos de dichos registros en el menor tiempo posible. Por ello parte de la actividad investigadora reciente se está centrande en el desarrollo de nuevos protocolos y técnicas más avanzadas de procesamiento de señales que proporcionen un entorno adecuado para esta nueva realidad [1-6].

Desde el punto de vista fisiológico, uno de los parámetros clave para ser monitorizado y así poder evaluar la salud cardíaca es la frecuencia cardíaca (FC) y su variabilidad. Su análisis puede proporcionar información de interés para la prognosis de un número relevante de enfermedades cardíacas, tales como: arritmias, episodios isquémicos transitorios, isquemia miocárdica silenciosa, y la evaluación del riesgo arritmico de los pacientes, entre otros [7]. Para la obtención del ritmo cardíaco y su variabilidad, es necesario como paso previo la detección del complejo QRS, el pico R y los intervalos de tiempo entre dos latidos consecutivos.

En este trabajo nos centramos en desarrollar un algoritmo de detección de QRS capaz de funcionar con la más alta eficiencia computacional y precisión posible, en registros MP. Este objetivo se ha logrado mediante el uso de un algoritmo que tiene en cuenta tanto la información inter-derivación como la información intra-derivación, ajustando el nivel de umbral y optimizando requerimientos computacionales. La precisión y la eficiencia computacional de los algoritmos fueron probadas en un conjunto de registros de Holter de 48h, cuidadosamente etiquetados previamente por el equipo clínico del Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca (Murcia - España). Para la valoración de la calidad del detector se utilizaron los estadísticos convencionales en este tipo de trabajo, a saber: sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo y precisión.

El presente documento está estructurado de la siguiente manera. En la Sección 2, en primer lugar, se describe la base de datos, los dispositivos y herramientas que se utilizan para el registro y procesamiento de señales. En segundo lugar, se explican todos los algoritmos aplicados para el procesamiento de señales. En la sección 3, incluimos los diferentes experimentos y resultados de los

métodos seleccionados aplicados sobre la base de datos.

2. Métodos

2.1. Base de Datos

La correcta evaluación de los métodos desarrollados requiere de señales de muy larga duración, (MP) que no se encuentran normalmente disponibles en las bases de datos públicas, como son la de arritmias del *MIT-BIH*. Dichas bases sólo contienen registros con duraciones inferiores a 24h. Es por ello que fue necesario la creación de una base de datos a medida para el propósito de este proyecto. Aquí nos referiremos a esta base de datos como BDMP la cual incorpora 200 registros de 48 horas de 5 hospitales diferentes, aunque en este trabajo sólo se utilizan 17 de esos registros: 2 pacientes con una función normal del corazón, 5 tenían un desfibrilador implantado, 5 presentan fibrilación auricular, y los últimos 5 sufrían frecuentes contracciones ventriculares prematuras.

Para el registro de estas señales se utilizaron dos grabadoras Holter diferentes, *SpiderView*, de *ELA medical*, y *SpiderView Plus*, de *Sorin Group*, ambas una frecuencia de muestreo de 200 Hz. Dichos dispositivos registran a la frecuencia mencionada y con 15 bits de resolución un total de hasta 3 derivaciones.

2.2. Procesado

El procesamiento de la señal se ha estructurado en cuatro fases: *segmentación*, para aumentar la eficiencia computacional, *preprocesamiento* para la eliminación de ruido y ajustes iniciales, *extracción de la señal característica* para destacar el complejo QRS y la *detección de ondas R* por medio de un umbral para la detección final y el análisis de FC.

Como paso previo a todo el bloque de preprocesado es necesario homogeneizar los diferentes tipos de registros con los que se ha contado en este trabajo, para ello contamos con una serie de algoritmos que nos permiten extraer la señal y los datos relevantes registrados por el Holter (frecuencia de muestreo, resolución en bits, etc).

2.2.1 Segmentación.

El gran tamaño de las señales de MP procesadas (una señal de 3 derivaciones, muestreada a 200 Hz con una resolución de 15 bits durante 48 horas consecutivas crea un archivo de 100 MB), exige unos recursos de computación raramente disponibles, es por ello que ha sido necesario plantear un esquema de segmentación que nos permita trabajar las señales con los recursos disponibles.

2.2.2 Preprocesamiento.

El preprocesado aplicado consistió en la supresión de la línea de base, y la aplicación de un filtrado paso-banda, además de un sencillo detector de presencia de señal. El filtro de paso-banda se definió con frecuencias de corte a 1 Hz y 50 Hz. La implementación de la reducción de la línea de base se realizó mediante un *spline* cúbico.

La presencia o ausencia de la señal se evaluó utilizando un umbral empírico de parámetros estadísticos clásicos, tales como la desviación estándar.

Finalmente, la sección 4 contiene la discusión y conclusiones.

2.2.3 Señal característica

Dado el tipo de señales con las que estamos trabajando pensamos que un era necesario utilizar algoritmos que tuviesen en cuenta las diferentes derivaciones de la señal, ya que debido a la actividad del paciente durante la grabación es muy probable que existan tramos donde no exista señal legible. Los algoritmos elegidos para la creación de la señal característica fueron los siguientes: Análisis de Componentes Independientes (*ICA*), Análisis de Componentes Principales (*PCA*), Pan Tompkins (*PT*), *Root Mean Square (RMS)*, *AND*, *OR*, *Simple Coupling (SC)* y *Polling (Poll)*.

Descomposición ICA. El método *ICA* proporciona la descomposición de las señales en un nuevo conjunto de señales estadísticamente independientes. Esta técnica pretende obtener señales originalmente relacionadas, a partir de componentes ruidosas sin relación alguna.

Matemáticamente, sea X la matriz con las señales multiderivación grabadas y sea S el conjunto de señales fuente, la matriz A representa una mezcla lineal que transforma la señal original en la señal grabada. En forma matricial, las ecuaciones de mezcla y separación pueden escribirse de esta forma,

$$X = AS \rightarrow S = A^{-1}X = WX \quad (1)$$

Por lo tanto, el problema *ICA* se centra en la estimación de las matrices A y S a partir de la matriz X , mediante la aplicación de la condición de que las componentes de la matriz S deben ser estadísticamente independientes. De esta forma, el problema puede ser reformulado para encontrar la matriz W que minimice la gaussianidad de las componentes de S . Para ello se aplicó el algoritmo *FastICA*. Las salidas *FastICA* están desordenadas y por lo tanto la señal de ECG limpia es elegida mediante el uso de la *kurtosis* [8].

Descomposición PCA. El modelo *PCA* tiene como objetivo encontrar señales fuente, pero no asume la independencia de las señales resultantes, sino que éstas deben ser ortogonales. Se asume que una o más componentes finales estarán libres de todo tipo de ruido. Para realizar esa descomposición, es necesario transformar un sistema de coordenadas de un determinado conjunto de datos con el fin de aumentar su variación. Entonces, se calcula tanto la matriz de covarianza como los vectores propios. Se realiza una transformación final utilizando el vector propio más alto. La salida *PCA* es un conjunto de datos donde la señal característica deseada ocupa la primera componente [9].

Algoritmo PT. El algoritmo *PT* obtiene la señal característica a partir de una sola derivación de la señal original (eligiendo la menos ruidosa), y aplicando un filtro paso-banda de la siguiente ecuación:

$$H(z) = 0.1(-2z^{-2} - z^{-1} + z + 2z^2) \quad (2)$$

A continuación, la señal es elevada al cuadrado para enfatizar los valores predominantes del pico R y posteriormente se usa una ventana deslizante. Este método opera sobre una única derivación, descartando la

información contenida en otras, no extrayendo el máximo de potencial de la señal [10].

Algoritmo RMS. Para mejorar el inconveniente mencionado en *PT*, hemos desarrollado el algoritmo *RMS*, que genera una señal característica mediante la combinación de todas las derivaciones utilizando el valor cuadrático medio de sus componentes, tal como se describe a continuación.

$$y_c(n) = \sqrt{\sum_{l=1}^L x^2(n, l)} \quad (3)$$

Donde y_c representa a la señal característica, $x(n, l)$ denota la l -ésima derivación de la señal de después del preprocesado, y L es el número de derivaciones de la señal.

2.2.3.1 Métodos combinatorios

Con el fin de mejorar la protección contra el ruido y para utilizar la información de las diferentes derivaciones, hemos desarrollado varios métodos combinatorios para obtener una señal característica. Los métodos propuestos se basan en una versión propia del algoritmo de *PT*, este nuevo algoritmo tiene en cuenta la información intra-derivación, así como el inter-derivación. El conjunto de señales características se crea de acuerdo con la siguiente ecuación,

$$y_c(n, l_i) = x_f(n, l_i) \sqrt{\prod_{l=1, l \neq l_i}^L x_f(n, l)} \quad (4)$$

Donde $y_c(n, l_i)$ es la señal característica de la i -ésima derivación y $x_f(n, l_i)$ es la señal preprocesado y filtrada utilizando el filtro del *PT* (2). Los picos R son detectados en cada una de las señales características y una vez obtenidos son tratados mediante un método combinatorio. Hemos creado cuatro diferentes métodos combinatorios posibles que se muestran a continuación.

- **And.** Función lógica *AND*, para que un pico R sea considerado válido es necesario que aparezca en todas las derivaciones de la señal en la misma posición.
- **Poll.** Para que un pico R sea considerado válido es necesario que aparezca en la misma posición en la mayoría de las derivaciones de la señal.
- **SC.** Para que un pico R sea considerado como válido es necesario que aparezca en la misma posición en al menos dos derivaciones.
- **Or.** Función lógica *OR*, todos los picos detectados en cada una de las derivaciones son considerados válidos.

Al comparar las detecciones en diferentes derivaciones, se implementa una ventana de tolerancia para tener en cuenta el retardo entre las diferentes derivaciones. El valor de esta ventana fue elegido para ser de 10 ms, un retardo de tiempo que representa en torno a un 10% de toda la duración de un complejo QRS típico.

2.2.4 Detección de los picos R.

Una vez calculada la señal característica, la detección de la onda R se realiza mediante la aplicación de un umbral. Para evitar la detección de ondas T como ondas R es necesario aplicar un umbral adicional a nuestra señal, esta técnica se conoce como técnica de doble umbral. El primer umbral actúa sobre la amplitud para detectar los picos y la segunda se aplica sobre el tiempo para comprobar la condición impuesta por el período refractario.

3. Experimentos y resultados

Con el fin de analizar el comportamiento de nuestro algoritmo sobre un conjunto amplio de helters ambulatorios (de 2 o 3 derivaciones), los experimentos se llevaron a cabo sobre dos subconjuntos de la BDMP: la primera contiene las grabaciones con dos derivaciones y la segunda con tres. La selección de estos casos fue realizada de forma no aleatoria maximizando la aparición de efectos anómalos como ruidos, cortes de señal para comprobar el comportamiento del modelo sobre el conjunto más amplio de eventualidades distintas. Las figuras de mérito utilizadas fueron: sensibilidad (S), valor predictivo positivo (P) y exactitud (E).

3.1. Mejora de eficiencia

Para optimizar la eficiencia computacional, se examinaron diferentes estrategias para la segmentación de la señal. En términos de eficiencia computacional, el peor de los casos será el que contenga el mayor número de derivaciones y por esa razón un subconjunto de registros con 3 derivaciones fue utilizados para este experimento. La Tabla 1 muestra la longitud óptima de segmento para cada algoritmo. Como resultado se observa que el de 5 minutos (min) fue el segmento con mejor comportamiento, tanto computacionalmente como en cuanto a su precisión.

Método	y	Procesamiento [segundos]	Figuras de mérito (%)		
			S	P	E
<i>ICA</i>	6 horas	99,44	90,48	84,80	78,99
<i>PCA</i>	30 min	83,71	96,79	95,89	93,00
<i>RMS</i>	30 min	79,18	99,07	94,21	93,48
<i>PT</i>	2 horas	76,24	99,46	95,96	95,48
<i>And</i>	5 min	99,08	96,42	95,59	99,08
Or	5 min	77,33	99,61	95,78	95,44
<i>SC</i>	5 min	77,33	99,28	96,09	95,45
<i>Poll</i>	5 min	77,33	99,28	96,09	95,45

Tabla 1 Optimización de la eficiencia computacional

3.2. Optimización de umbrales

En este experimento se utilizaron ambos subconjuntos de BDMP para conseguir que los resultados obtenidos fuesen independientes del tipo de Holter empleado. En este punto fue necesario un ajuste fino de los parámetros libres de umbral de selección. Estos umbrales se calculan

sumando el múltiplo x -ésimo del valor medio de la señal con el múltiplo y -ésimo de la desviación estándar de la señal característica. La Tabla 2 muestra la media de las figuras de mérito para cada algoritmo utilizando su umbral de amplitud óptimo.

3.3. Método de detección óptima de pico R

De acuerdo con los experimentos anteriores, el método combinatorio “Or” superó al resto de las técnicas desarrolladas (ver Tabla 2). Es destacable que lo fue tanto en términos de tiempo de cálculo, como en el éxito de la detección.

Métodos	Figuras de mérito [%]					
	BDMP 2 deriv.			BDMP 3 deriv.		
	S	P	E	S	P	E
<i>Poll</i>	97,81	93,53	93,53	98,98	95,29	95,29
Or	99,84	92,63	92,63	99,78	93,22	93,22
<i>And</i>	97,81	93,53	93,53	98,50	95,49	95,49
<i>SC</i>	97,81	93,53	93,53	98,39	92,94	92,94
<i>ICA</i>	84,23	70,53	70,53	88,56	70,53	70,53
<i>PT</i>	98,21	88,26	88,26	98,21	88,26	88,26
<i>RMS</i>	98,04	89,05	89,05	98,07	89,16	89,16
<i>PCA</i>	95,63	84,12	84,12	95,73	85,93	85,93

Tabla 2 Figuras de mérito para de 2 y 3 derivaciones.

Durante este experimento, los procesos de optimización de parámetros libres se realizaron con diferentes estrategias para mejorar la precisión. Como resultado de esos procesos se ajustaron a los siguientes valores: la frecuencia de corte superior del filtro paso-banda se bajó a 25 Hz, ya que esta mostró mejores resultados que el original de 50 Hz, el período refractario del algoritmo se ajustó, así como los parámetros clave en los mecanismos para la eliminación de ruido. Los resultados obtenidos por el algoritmo optimizado fueron 99,23% de S, 95,63% de especificidad, 95,71% de P, 99,23% de valor predictivo negativo, y 97,06% de E.

4. Conclusión

El método definido en este documento, con una segmentación mencionada, usando el algoritmo de detección de QRS de *PT* modificado, y el uso de la información completa presente en todas las derivaciones disponibles combinadas con la función *OR*, superó a todos los algoritmos descritos anteriormente sobre nuestros registros de 48 horas. Las mejoras mencionadas tienen efecto sobre el algoritmo tanto en términos de precisión, como de eficiencia computacional. Como próximos pasos y para poder validar los hallazgos presentados se propone probar dicho análisis en bases de datos públicas tales como las de *MIT/Physionet* [8].

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente subvencionado TEC2013-48439-C4-2-R (subvencionado con fondos FEDER), TEC2010-19263, TEC2016-75161-C2-2-R, IPT-2012-1126-300000, DP12011-27002-C02-01, ACOMP/2013/018, PII1/02549, y RD06/0014/0017.

Referencias

- [1] Dagres, N., et al. (2010). Influence of the duration of Holter monitoring on the detection of arrhythmia recurrences after catheter ablation of atrial fibrillation. *International Journal Of Cardiology*, 139(3), 305-306. doi:10.1016/j.ijcard.2008.10.004
- [2] Griffiths, H. (1982). Basic arrhythmias by Gail Walraven R. J. Brady Co., Maryland, USA, (1980) ISBN 0-87619-627-X. *Clin Cardiol*, 5(6), 376-378. doi:10.1002/clc.4960050606
- [3] Jabaudon, D., et al. (2004). Usefulness of Ambulatory 7-Day ECG Monitoring for the Detection of Atrial Fibrillation and Flutter After Acute Stroke and Transient Ischemic Attack. *Stroke*, 35(7), 1647-1651. doi:10.1161/01.str.0000131269.69502.d9
- [4] Kuzilek, J., et al. (2013). Electrocardiogram beat detection enhancement using Independent Component Analysis. *Medical Engineering & Physics*, 35(6), 704-711. doi:10.1016/j.medengphy.2012.07.017
- [5] Martínez, A., et al. (2006). A systematic review of the literature on home monitoring for patients with heart failure. *Journal Of Telemedicine And Telecare*, 12(5), 234-241. doi:10.1258/135763306777889109
- [6] Pastor-Pérez, F., et al. (2012). Prognostic Significance of Long-Period Heart Rate Rhythms in Chronic Heart Failure. *Circulation Journal*, 76(9), 2124-2129. doi:10.1253/circj.12-0192
- [7] Seto, E. (2008). Cost Comparison Between Telemonitoring and Usual Care of Heart Failure: A Systematic Review. *Telemedicine And E-Health*, 14(7), 679-686. doi:10.1089/tmj.2007.0114
- [8] Steven, D., et al. (2008). What is the real atrial fibrillation burden after catheter ablation of atrial fibrillation? A prospective rhythm analysis in pacemaker patients with continuous atrial monitoring. *European Heart Journal*, 29(8), 1037-1042. doi:10.1093/eurheartj/ehn024
- [9] Chawla M., et al (2006). ECG modeling and QRS detection using principal component analysis. IET 3rd Inter Conference MEDSIP 2006 Advances in Medical, Signal and Information Processing.
- [10] Pan, J. & Tompkins, W. (1985). A Real-Time QRS Detection Algorithm. *IEEE Transactions On Biomedical Engineering*, BME-32(3), 230-236. doi:10.1109/tbme.1985.325532

Dirección para correspondencia:

Francisco-Javier Gimeno-Blanes (javier.gimeno@umh.es)

Edif. Innova, Avda. Universidad, s/n,

03202 Elche – Alicante -España

Aplicación móvil para la gestión de una red inalámbrica de sensores corporales biomédicos

A. Talaminos Barroso¹, D. Naranjo Hernández^{1,2}, G. Barbarov Rostan¹, L.M. Roa Romero^{1,2}, J. Reina Tosina^{2,3}

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Sevilla

² Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN)

³ Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad de Sevilla

Resumen

En este trabajo se presenta el diseño e implementación de un primer prototipo de una aplicación móvil para la gestión de una red personal de sensores inalámbricos (WPAN) dentro del contexto de e-Salud y siguiendo una perspectiva de arquitecturas interoperables, abiertas, modulares y extensibles. La aplicación móvil está constituida por una API (Interfaz de Programación de Aplicaciones) que incluye una serie de módulos funcionales interconectados que se encargan de la comunicación inalámbrica con los sensores, la gestión de los datos, el almacenamiento de forma local en el móvil y la transmisión hacia una ubicación externa. De esta forma se pretende que el terminal móvil actúe como un concentrador de información, facilitando la adaptación para la comunicación con sensores biomédicos de distintos fabricantes que hagan uso de la familia de estándares ISO/IEEE 11073.

1. Introducción

El paradigma de e-Salud [1] ha surgido en los últimos años como una alternativa a los sistemas clásicos de telemedicina donde el paciente era considerado como un elemento pasivo en la asistencia sanitaria [2]. En oposición a esto, e-Salud pretende un cuidado continuo de la salud, por el que la ciudadanía pasa de tener un papel pasivo a convertirse en un consumidor activo de la industria de la salud. Este nuevo cambio asistencial está extendiendo también el área de actuación del proceso de cuidado, que tradicionalmente ha estado ubicado exclusivamente en centros hospitalarios y clínicos, y lo está ampliando también hacia un escenario de computación ubicua.

Desde el punto de vista tecnológico, este nuevo cambio en el modelo asistencial que se está imponiendo, abre nuevas líneas de investigación relacionadas con el estudio de nuevos métodos y técnicas que permitan una monitorización continua y un seguimiento constante de las variables fisiológicas. Una supervisión constante, personalizada y de carácter preventivo puede ayudar a mejorar el bienestar y la calidad de vida del ciudadano, reduciendo también ingresos hospitalarios innecesarios y disminuyendo los altos costos asociados.

En este sentido, actualmente existe un creciente interés por el desarrollo de sensores portables biomédicos dada la disminución de costes, la miniaturización electrónica y la rápida evolución de las comunicaciones inalámbricas. La gran proliferación de estos dispositivos por parte de distintos fabricantes está dando lugar a una gran

heterogeneidad de semánticas y protocolos de comunicación propietarios completamente cerrados y no interoperables, lo que está propiciando una carga adicional de trabajo en el despliegue de plataformas de sensores de este tipo. Esto está contribuyendo al aumento de la complejidad en los sistemas sanitarios implicados en la gestión e integración de los datos entre distintas fuentes de información heterogéneas. Para afrontar estos problemas de interoperabilidad que demanda el paradigma e-Salud, se propuso la adopción, por parte de los fabricantes de dispositivos biomédicos, de la familia de estándares ISO/IEEE 11073 (también referido como X73), que fue inicialmente definido para describir el intercambio interoperable de señales vitales entre dispositivos médicos (agentes) y equipamiento central (managers) en el Punto de Cuidado (PoC). Aunque actualmente ya existen diversas iniciativas en cuanto a la interoperabilidad entre dispositivos biomédicos mediante X73 [3], todavía existen problemas de integración [4].

Dentro de este contexto de heterogeneidad de sensores y ausencia de interoperabilidad, en este trabajo se presenta una aplicación móvil diseñada e implementada con el objetivo de proveer de un medio de gestión sencillo para la comunicación con sensores biomédicos portables compatibles con la norma X73 a través de un dispositivo concentrador, por ejemplo, un teléfono móvil. La aplicación se ha investigado, diseñado y desarrollado desde un punto de vista modular y extensible, facilitando la escalabilidad y la integración de nuevos sensores, así como la agregación de otras funcionalidades adicionales.

2. Materiales y métodos

La metodología seguida en la construcción de la aplicación móvil está sustentada en el denominado ciclo de vida de desarrollo de sistemas (SDLC) [5], un proceso clásico de desarrollo de software en ingeniería de sistemas e ingeniería del software. SDLC está constituido de una serie de etapas entre las que se incluyen: análisis de requisitos y definición de especificaciones tecnológicas, diseño, implementación, pruebas y evaluación. Desde un punto de vista de diseño, para la construcción de la aplicación se ha utilizado una metodología de arquitectura modular, definiendo todos los elementos funcionales de la aplicación como componentes escalables y reutilizables.

En este primer prototipo de la aplicación móvil únicamente se ha considerado el escenario del punto de cuidado. En este sentido, los posibles actores o roles encargados de interactuar con la aplicación son los siguientes:

- Usuario/paciente: es el portador de los dispositivos sensores que monitorizan sus variables fisiológicas.
- Cuidador no profesional: es el actor asociado a un determinado paciente/ciudadano y que recibe eventos de interés, tales como sugerencias, alarmas, preguntas, tests o recordatorios.

La aplicación móvil desarrollada va a ser la encargada de la gestión de la red de sensores portables de los usuarios. Entre las características deseables que deberían incluir estos sensores se encuentran un modo de personalización automática, bajo consumo energético, compatibilidad con estándares y mínimo coste económico. Respecto a las comunicaciones estos dispositivos sensores transmiten habitualmente los datos de forma inalámbrica vía Bluetooth [6].

La arquitectura de la aplicación propuesta está diseñada bajo una perspectiva modular a través de una API (Interfaz de Programación de Aplicaciones) que provee una capa de abstracción para facilitar la comunicación con los sensores y el acceso a los datos que se monitorizan. A nivel de programación, la API proporciona instancias hacia los sensores que se pretenden controlar, donde cada instancia está constituida por un conjunto de módulos con sus respectivas interfaces. Cada módulo provee dos tipos de servicios: unos de carácter público, que son las interfaces utilizadas en las capas superiores, y otros de naturaleza privada, que propagan internamente los eventos generados hacia el resto de módulos.

Respecto a las comunicaciones, el elemento concentrador en esta red WPAN es el terminal móvil, que se encarga principalmente de recibir los datos procedentes de los sensores, almacenarlos localmente y enviarlos a una ubicación externa. En la actualidad, la mayoría de terminales móviles disponibles en el mercado son compatibles con la versión 4.0 de Bluetooth (Bluetooth LE o de bajo consumo), que ofrece ventajas significativas respecto al consumo energético y soporta un mayor número de conexiones simultáneas respecto a versiones anteriores del estándar.

Para garantizar la comunicación entre cualquier tipo de sensor y la aplicación móvil, se ha empleado el estándar ISO/IEEE11073 (X73) [7] de interoperabilidad entre dispositivos médicos. Más específicamente a través del estándar X73PHD, una evolución del X73 para satisfacer las necesidades actuales centradas en los nuevos dispositivos personales o portables en el escenario del punto de cuidado.

Actualmente la aplicación desarrollada se ejecuta bajo el sistema operativo Android. Sin embargo, el diseño modular de la aplicación permite que pueda portarse de forma sencilla a otras plataformas móviles como iOS y Windows Phone. Algunas librerías de programación móvil en Android que han sido utilizadas en la implementación de la aplicación, con el fin de agilizar el desarrollo de determinadas tareas, son las siguientes:

- GraphView: para la creación de forma programática de gráficas sencillas en dos dimensiones.
- Gson: permite la conversión de tipos entre objetos de programación y objetos JSON, y viceversa.
- Java-Websocket: proporciona un canal de comunicaciones bidireccional y full-duplex a un servidor externo utilizando la tecnología Websocket, estandarizada por el IETF (Internet Engineering Task Force).
- OrmLite: permite la conversión de tipos entre objetos de programación y registros de tablas en una base de datos, y viceversa.
- EventBus: se encarga de disparar los eventos en un determinado módulo de forma asíncrono y propagarlo hacia el resto de módulos.
- Antidote: es una librería que implementa el stack IEEE 11073. Sus principales características son la portabilidad, sencillo uso y la fácil integración con aplicaciones desarrolladas en el sistema operativo Android.

Por último, respecto a la metodología seguida para las pruebas de usabilidad a realizar por los usuarios en un futuro, está previsto la aplicación de la norma ISO 9241, enfocada al análisis de la calidad en usabilidad y ergonomía, tanto del hardware como del software. Aspectos relevantes como la estructura de los menús, la navegación, las opciones de selección y los componentes de la interfaz gráfica serán analizados a partir de las interacciones del usuario con el sistema conforme a unas tareas específicas previamente establecidas. La finalidad fundamental será la de conseguir que la aplicación móvil se ajuste lo máximo posible a las necesidades de los usuarios y resulte efectiva, eficiente y satisfactoria para los mismos. En este primer prototipo de aplicación móvil que se presenta en este trabajo no se incluyen los resultados de estas pruebas de usabilidad puesto que la interfaz gráfica de usuario todavía no se encuentra suficientemente madura, sin embargo, para la API sí se ha realizado una validación técnica basada en la ejecución de tests unitarios.

3. Resultados

La aplicación desarrollada se ha construido desde una perspectiva modular por medio de una API que provee una serie de módulos dependientes de la instancia del sensor que se va a utilizar. Respecto a la naturaleza de los módulos, existen tres tipos diferentes: módulos obligatorios, módulos opcionales y módulos específicos.

Los módulos obligatorios son el núcleo de la aplicación y están presentes en todas las instancias de cualquier dispositivo sensor. Los cuatro módulos obligatorios son:

- Módulo de comunicaciones: se encarga de la transmisión y recepción de los datos con el dispositivo sensor vía Bluetooth, abstrayendo toda la complejidad de la comunicación a las capas superiores. Entre los servicios que proporciona este módulo se encuentra el de conocer el estado actual de la conexión con el sensor, así como la intensidad de la señal con el dispositivo, entre otros aspectos. Este módulo

implementa un *mánager X73* que es el encargado de simular la FSM (Máquina de Estados Finita) conforme al estándar *X73PHD*. *X73PHD* optimiza la arquitectura del modelo de comunicaciones entre los MD (Medical Manager) y el CE (Compute Engine), y especifica una FSM que define el procedimiento de sincronización MD-CE. Esta FSM se ha implementado en este módulo de Bluetooth considerando cada uno de los diferentes estados que están definidos en la norma *X73*.

Por otra parte, las tasas de transmisión de datos soportadas por el estándar Bluetooth permiten la comunicación con la gran mayoría de los sensores biomédicos existentes en la actualidad [8] (Tabla 1).

Sensor	Medida	Tasa de bits
ECG	Actividad cardiaca	72 Kb/s
EEG	Actividad cerebral	86.4 Kb/s
EMG	Actividad muscular	1536 Mb/s
Pulsioxímetro	Saturación de O ₂	<10 Kb/s
Termómetro	Temperatura corporal	<10 Kb/s
Glucómetro	Glucosa en sangre	<10 Kb/s
Báscula	Peso	<10 Kb/s
Bioimpedanciómetro	Composición corporal	<10 Kb/s
GSR	Nivel de transpiración	<10 Kb/s
Acelerómetro y giroscopio	Tipo de actividad física	<10 Kb/s

Tabla 1. Tipos de sensores biomédicos, medidas y tasa de bits.

- Módulo de base de datos: almacena de forma interna en el teléfono todos los datos recogidos de los sensores, así como las configuraciones de los mismos y registros de auditoría.
- Módulo de auditoría: monitoriza toda la actividad y eventos que se producen en la API y lo almacena en registros de log (información, errores o advertencias).
- Módulo de configuración: provee una interfaz de acceso para configurar algunos aspectos de la API relativos a la base de datos, las comunicaciones, las auditorías u otras cuestiones.

Módulos opcionales: son módulos que pueden integrarse o no en la instancia del sensor, en función de las necesidades de la aplicación que se esté desarrollando. Actualmente se han definido dos módulos de este tipo:

- Módulo de sensor: informa acerca de aspectos relacionados con el dispositivo sensor asociado a la instancia, por ejemplo, la calibración, una mala colocación, un bloqueo del dispositivo o el estado actual de la batería.
- Módulo de cloud: es el encargado de la comunicación de los datos hacia una ubicación externa. Básicamente transforma los datos almacenados en la base de datos local a objetos JSON (JavaScript Object Notation).

Por último, los módulos específicos son aquellos exclusivos a un determinado tipo de sensor. Un ejemplo de

módulo de este tipo es el módulo de procesamiento asociado al sensor de caída, que se encarga de discriminar si un determinado impacto producido es una caída o no.

En la Figura 1 se muestra la arquitectura de capas de la API desarrollada donde se presentan dos instancias de sensores y los módulos que engloban. Tal y como puede apreciarse, los módulos obligatorios están presentes en las dos instancias y se encuentran resaltados en rojo, mientras que los opcionales y específicos son de color blanco.

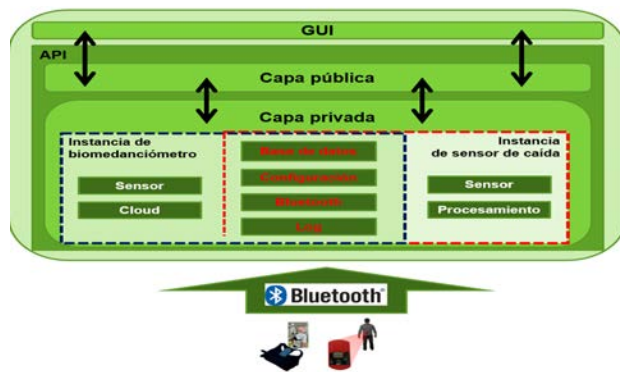


Figura 1. Arquitectura de capas de la aplicación móvil desarrollada.

Para la comunicación de eventos entre los diferentes módulos se ha implementado un mecanismo basado en el paradigma de publicación/suscripción. En este sentido, un determinado módulo puede estar suscripto a uno o más eventos y recibir las publicaciones de estos eventos generadas por otros módulos de forma asíncrona. De esta forma se garantiza la reusabilidad de componentes, así como la fácil inclusión de nuevos módulos que aporten otras funcionalidades y aprovechen las ya existentes del resto de módulos. En la Figura 2 es presentada un ejemplo de comunicación entre el módulo de comunicaciones (publicador) y los módulos de procesamiento y almacenamiento (suscriptores), considerando un evento de caída y otro de baja batería.

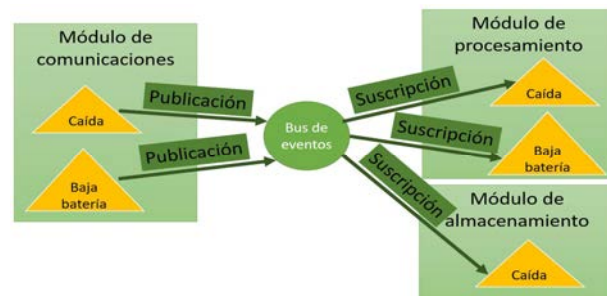


Figura 2. Modelo de comunicación entre módulos de la aplicación.

A nivel más técnico, el módulo publicador registra inicialmente el evento en el bus de comunicaciones. Cada evento es identificado inequívocamente como una clase de Java especial denominada *Javabeans* que encapsula varios objetos de diferentes tipos de datos y que provee unas interfaces públicas de tipo *getters* y *setters*. El publicador crea una instancia de esta clase *Javabeans* antes de la publicación y posteriormente notifica al bus de comunicaciones el envío de nueva información. El suscriptor o suscriptores pueden recibir el objeto con los

datos en el mismo hilo de ejecución o en uno alternativo, en función de si va a realizar cambios en la interfaz gráfica o no. Este tipo de comunicaciones entre módulos es ideal para la generación de alarmas cuando ocurre una situación de emergencia. Sin embargo, dada la limitada tasa de bits necesaria por la mayoría de los sensores (Tabla 1), se ha obviado la inclusión de un sistema de priorización de eventos.

Desde el punto de vista del almacenamiento de la información, una de las cuestiones fundamentales de la aplicación móvil es el modelo de datos empleado. En la Figura 3 se propone un diagrama entidad-relación simplificado del modelo de datos utilizado mediante el uso de la notación crow's foot [9]. Tal y como puede observarse en la figura, un usuario puede tener asociado varios teléfonos móviles y a su vez, un teléfono móvil puede controlar varios dispositivos sensores (que están identificados por su dirección física). A cada dispositivo sensor se le vincula un tipo de sensor, una configuración y un conjunto de datos (que varía en función del tipo de sensor).

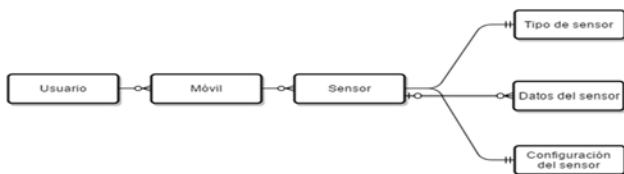


Figura 3. Diagrama entidad-relación simplificado del modelo de datos utilizado en la base de datos de la plataforma.

Para un testeo preliminar de la aplicación desarrollada se ha utilizado un sensor de detección de caída inteligente [10]. Para el diseño de la interfaz gráfica de la aplicación, se han realizado diversos cuestionarios y entrevistas a los usuarios finales con el objetivo de detectar posibles necesidades o requisitos. Bajo esta perspectiva de diseño, las interfaces gráficas se han construido para que puedan ser adaptadas a cualquier tipo de dispositivo, pantalla y resolución, considerando además las capacidades y conocimientos tecnológicos de los usuarios finales, así como las posibles limitaciones físicas o psíquicas de los mismos, facilitando de esta forma la accesibilidad y usabilidad de la aplicación. En la Figura 4 se observa una captura de pantalla donde se muestra la gestión de la detección de caída.



Figura 4. Captura de pantalla de la aplicación móvil desarrollada para la detección de caída.

4. Conclusiones

Se ha diseñado e implementado un primer prototipo de aplicación para la gestión de una WPAN que hace uso del estándar ISO/IEEE 11073. El diseño de la aplicación parte de unas especificaciones que garantizan la reusabilidad, interoperabilidad y escalabilidad de los módulos funcionales que ofrecen, formando un sistema que cumple con las características propias de las arquitecturas abiertas. Actualmente se están trabajando en un segundo prototipo que integrará nuevos sensores en la aplicación desarrollada, e incluirá las mejoras necesarias teniendo en cuenta la validación de usuario.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en parte por la Fundación Progreso y Salud (Junta de Andalucía), bajo los proyectos PI-0010-2013 y PI-0041-2014, en parte por el Fondo de Investigaciones Sanitarias, Instituto de Salud Carlos III, bajo los proyectos PI15/00306 y, DTS15/00195, en parte por el CIBER-BBN bajo los proyectos INT-2-CARE, NeuroIBC, y ALBUMARK.

Referencias

- [1] G. Drosatos, P. S. Efraimidis, G. Williams, y E. Kaldoudi, «Towards Privacy by Design in Personal e-Health Systems», 2016, pp. 472-477.
- [2] A. Townsend, P. Adam, L. C. Li, M. McDonald, y C. L. Backman, «Exploring eHealth Ethics and Multi-Morbidity: Protocol for an Interview and Focus Group Study of Patient and Health Care Provider Views and Experiences of Using Digital Media for Health Purposes», *JMIR Res. Protoc.*, vol. 2, n.º 2, p. e38, 2013.
- [3] H. G. Barrón-González, M. Martínez-Espronedada, J. D. Trigo, S. Led, y L. Serrano, «Lessons learned from the implementation of remote control for the interoperability standard ISO/IEEE11073-20601 in a standard weighing scale», *Comput. Methods Programs Biomed.*, vol. 123, pp. 81-93, ene. 2016.
- [4] F. Khodadadi, A. V. Dastjerdi, y R. Buyya, «Simurgh: A framework for effective discovery, programming, and integration of services exposed in IoT», en *2015 International Conference on Recent Advances in Internet of Things (RIoT)*, 2015, pp. 1-6.
- [5] A. Sharma, M. Kumar, y S. Agarwal, «A Complete Survey on Software Architectural Styles and Patterns», *Procedia Comput. Sci.*, vol. 70, pp. 16-28, ene. 2015.
- [6] «Bluetooth Technology Website». [En línea]. Disponible en: <https://www.bluetooth.com/>. [Accedido: 27-oct-2016].
- [7] Y. F. Lee, «An Interoperability Solution for Legacy Healthcare Devices», *IT Prof.*, vol. 17, n.º 1, pp. 51-57, ene. 2015.
- [8] P. J. Soh, G. A. E. Vandenbosch, M. Mercuri, y D. M. M. P. Schreurs, «Wearable Wireless Health Monitoring: Current Developments, Challenges, and Future Trends», *IEEE Microw. Mag.*, vol. 16, n.º 4, pp. 55-70, may 2015.
- [9] A. Paz, N. Veeramisti, I. Khanal, J. Baker, y H. de la Fuente-Mella, «Development of a Comprehensive Database System for Safety Analyst», *Sci. World J.*, vol. 2015, p. e636841, jun. 2015.
- [10] D. Naranjo-Hernandez, L. M. Roa, J. Reina-Tosina, y M. A. Estudillo-Valderrama, «Personalization and adaptation to the medium and context in a fall detection system», *IEEE Trans. Inf. Technol. Biomed. Publ. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.*, vol. 16, n.º 2, pp. 264-271, mar. 2012.

Migración de una aplicación web de gestión de pacientes nefrológicos a la nube usando contenedores

F. Gómez Romero, I. Román Martínez^{1,2}, J. Calvillo Arbizu^{2,3}, L.M. Roa Romero^{2,3}

¹ Departamento de Ingeniería Telemática, Universidad de Sevilla, España, isabel@trajano.us.es

² CIBER- BBN

³ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Sevilla, España, lroa@us.es

Resumen

En este trabajo se exponen los primeros pasos realizados para migrar la aplicación web e-Nefro, resultado de trabajos previos del Grupo de Ingeniería Biomédica de la Universidad de Sevilla, a una plataforma cloud en la modalidad IaaS (Infraestructura como servicio). Se utilizan contenedores como tecnología de virtualización y se presentan varios escenarios posibles, analizando ventajas e inconvenientes de cada uno de ellos.

1. Motivación

En proyectos previos del Grupo de Ingeniería Biomédica [1,2] se ha desarrollado un servicio Web, e-Nefro, para la gestión de Pacientes Nefrológicos. Dicho servicio se gestiona actualmente en una máquina dedicada, que incluye todos los componentes del servicio y que permite servir únicamente a un centro sanitario.

Este diseño ha resultado adecuado para trabajos anteriores y no ha dado ningún problema, sin embargo actualmente se plantean dos nuevos retos.

Primero; En uno de los proyectos que actualmente el grupo está desarrollando hay varios centros sanitarios implicados, este diseño fuerza a desplegar una máquina virtual para cada uno de los centros. De este modo los datos almacenados por cada uno de ellos se encuentran en bases de datos separadas (aunque de estructura idéntica). Esto no supone ningún inconveniente, dado que podemos hacer a posteriori la integración de datos para su análisis, pero utilizar una base de datos compartida podría optimizar el proceso de análisis que se debe realizar.

Segundo; Si pensamos en la posibilidad de escalar el servicio, más centros y usuarios, sería conveniente una solución que permitiera la elasticidad del servicio, optimizando el uso de recursos según las necesidades reales en cada momento. Al mismo tiempo sería necesario asegurar las prestaciones no funcionales del sistema a medida que éste crece (disponibilidad, fiabilidad, seguridad, eficiencia...).

En este punto se plantea la posibilidad de ofrecer el servicio utilizando tecnologías cloud y se comienzan a estudiar las posibilidades. En este trabajo se presentan los primeros pasos, la implementación de distintos prototipos que han permitido explorar las posibilidades que las tecnologías de contenedores, y las herramientas de orquestación de éstos,

ofrecen para realizar el despliegue en nube, según el modelo IaaS.

2. Estado de la técnica

2.1. Contenedores

Un contenedor es una tecnología de virtualización de un sistema operativo con un sistema de ficheros minimizado para ejecutar un único servicio o programa. Aunque los contenedores comparten el kernel de la máquina en la que se están ejecutando, los procesos que corren dentro de ellos actúan de forma aislada al resto del sistema, reservando en exclusividad recursos como CPU o memoria [3]. Así es más sencillo aumentar o reducir los recursos destinados a cada “microservicio”, de manera independiente a los demás.

Los contenedores van sobre el sistema operativo, compartiendo directamente el kernel, mientras que una máquina virtual necesita un hipervisor, que monta por encima un sistema operativo completo. De este modo los contenedores están diseñados para ser más ligeros y necesitar menor tiempo de despliegue que las máquinas virtuales, sólo necesita las librerías y binarios que vaya a utilizar el servicio que ejecuta. Al no depender de un hipervisor se consumen menos recursos de la máquina principal y se obtiene mayor rendimiento. Al compartir el kernel las aplicaciones que van sobre contenedores se interconectarán más fácilmente que las que corren en diferentes máquinas virtuales.

Sin embargo también hay algunos inconvenientes. Las tecnologías de contenedores obligan a que los servicios y aplicaciones se desarrollen para el mismo sistema operativo, el aislamiento y seguridad entre aplicaciones corriendo en distintas máquinas virtuales es mayor que si se utilizan contenedores y, por último, el contenedor está pensado para tener una “vida efímera”, por lo que la persistencia de información es más compleja de gestionar.

Para desplegar una aplicación compleja será necesario utilizar herramientas que permitan administrar aplicaciones multi-contenedor, en muchas ocasiones distribuidos en diferentes máquinas. Esta tarea se conoce como orquestación de contenedores.

2.2. Computación en la nube

La computación en la nube [4] cambia el tradicional modelo en el que la infraestructura de sistemas de información y comunicaciones es instalada y mantenida en el local del cliente, a uno en el que esta infraestructura se externaliza, y se gestiona y mantiene por el proveedor en sus propios “mega” centros de datos. Una de las principales ventajas es que los recursos dedicados al cliente para soportar sus requisitos TIC se pueden adaptar a las necesidades específicas en cada situación, dedicando siempre justo los recursos necesarios. Esta característica se conoce como elasticidad y conlleva también un ajuste de los costes para el cliente.

El servicio ofrecido por el proveedor puede seguir diversos modelos entre los que destacan:

- Software como Servicio (SaaS): el proveedor ofrece servicios directamente al usuario final, a nivel aplicación, siendo el acceso más habitual a estas aplicaciones vía web.
- Plataforma como Servicio (PaaS): el proveedor ofrece un entorno preparado para que los clientes puedan desarrollar sus aplicaciones y ofrecerlas al usuario final. La plataforma proporciona facilidades como replicación, balanceo de carga, fiabilidad o persistencia a las soluciones desarrolladas.
- Infraestructura como Servicio (IaaS): el proveedor ofrece básicamente máquinas virtuales y almacenamiento, liberando al cliente sólo del despliegue y mantenimiento de la infraestructura física, además de algunas facilidades básicas como cortafuegos o copias de seguridad.

3. Selección de soluciones

3.1. Docker

Tras el estudio de diferentes tecnologías de contenedores se decidió utilizar Docker [5] en el desarrollo de este trabajo. Entre otros motivos por su creciente aceptación, la bibliografía disponible y su portabilidad a distintas plataformas.

Docker incluye una aplicación cliente y un host. El host alberga los contenedores y ejecuta órdenes (lanzar un contenedor, detenerlo, monitorizarlo...). El cliente será el que mande las órdenes por medio de una API REST o usando sockets. Así el cliente y el host pueden ejecutarse en máquinas separadas. El ciclo de vida de un contenedor va ligado a la ejecución del proceso lanzado.

Una imagen de Docker es una plantilla donde se especifican los detalles de un contenedor. Utilizar imágenes construidas por otros, directamente o personalizándolas, resulta menos costoso que crear una nueva. El número de imágenes de contenedores ya disponibles en Docker Hub [6] es otro de los motivos para usar Docker.

3.2. Azure

Aunque la solución para computación en nube de Microsoft, Azure [7], ha sido la última en adelantar

posiciones en contenedores, no ha publicado hasta 2016 su servicio denominado Azure Container Service (ACS), ha sido la elegida. El motivo es que se dispone de licencias educativas y crédito para que los alumnos puedan utilizar los recursos que ofrece la plataforma.

3.3. Kubernetes

El trabajo ha sido desarrollado usando Kubernetes [8] como tecnología de orquestación, una solución de código abierto proporcionada por Google. Esta decisión se toma porque actualmente está en un nivel de madurez superior al de otras alternativas y ofrece algunas facilidades para el despliegue en Azure.

Las funcionalidades principales van desde el escalado y actualización de los componentes a la optimización de los recursos según los requisitos. Consigue que el estado de cada uno de los contenedores, y de la aplicación en su conjunto, sea continuamente el deseado y especificado. Por lo que el sistema resulta robusto y fiable.

4. Escenarios desarrollados

4.1. Migración de e-Nefro a contenedores

E-nefro está desarrollada con servlets de Java y actualmente se está utilizando la solución de Apache, Tomcat, como contenedor de servlets. Para persistir la información se usa PostgreSQL como gestor de base de datos.

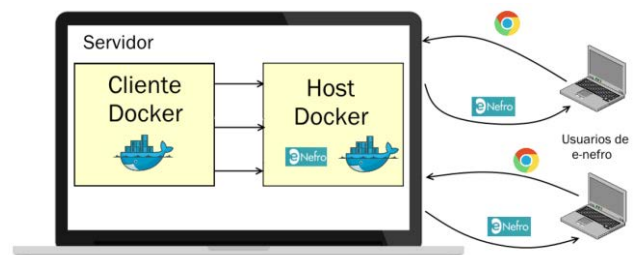


Figura 1. Arquitectura Docker en el primer escenario

En este primer escenario se ha automatizado el proceso de despliegue de E-nefro en un servidor local con contenedores Docker. Por simplicidad la misma máquina alberga el cliente y el host de Docker. Como muestra la figura 1.

Cada servicio que necesita la aplicación funciona en un contenedor diferente, lo que favorece la independencia entre ellos y la elasticidad de recursos. El sistema se comienza dividiendo en tres tipos de contenedores diferentes:

- El primero con Tomcat, que contiene el fichero nefro.war para el despliegue de la aplicación.
- El segundo con PostgreSQL, que contiene la base de datos que se inicializa con los ficheros sql de E-nefro.
- El tercero un contenedor de datos, que permite la persistencia de la información introducida aunque el contenedor de base de datos deba reiniciarse.

Se añade un cuarto con el fin de incluir un proxy inverso, intermediario del tráfico destinado a la aplicación. Éste incluye un servicio llamado Nginx [9], que se encargará de procesar todo el tráfico entrante para después redirigirlo a Tomcat. Nginx es un servidor web muy ligero, lo que lo convierte en el favorito para ser usado como proxy inverso. Este modelo aporta algunas ventajas entre las que destacan:

- Se puede distribuir el tráfico entre varios contenedores idénticos de Tomcat corriendo simultáneamente para evitar sobrecarga y proveer un servicio elástico que adapte sus recursos. En este caso se ha habilitado Nginx para que funcione como balanceador de carga usando el método por defecto (round-robin, que selecciona el contenedor destino de forma ordenada), pero Nginx permite definir otros algoritmos que optimicen el rendimiento del servicio.
- Se evita tener el contenedor de Tomcat expuesto al exterior, pudiendo establecer un punto único de autenticación y autorización para todas las peticiones entrantes.
- El proxy puede servir el contenido estático disminuyendo la carga para el resto de contenedores.
- Adicionalmente, puede funcionar como caché.

El Sistema final de contenedores se muestra en la figura 2, con el contenedor de Nginx recibiendo todo el tráfico y rediriéndolo a los contenedores de Tomcat.

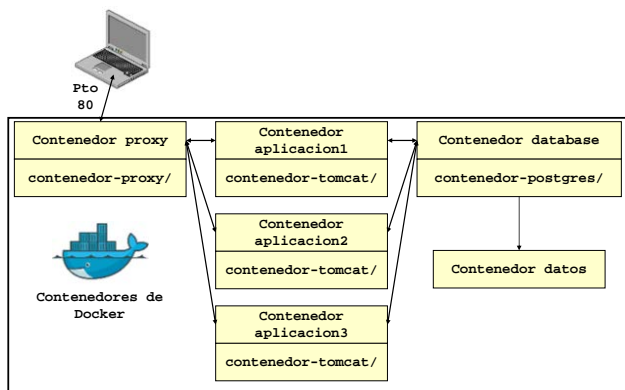


Figura 2. Detalle de la arquitectura de contenedores en la primera solución

Se ha utilizado la herramienta Docker Compose, que facilita la administración de una aplicación multi-contenedor. Ha sido necesario configurar el fichero docker-compose.yml incluyendo toda la información de cada uno de los contenedores; sus vínculos con los demás, volúmenes y el orden de ejecución. El resultado es que se reduce considerablemente el número de comandos a ejecutar para administrar la aplicación.

4.2. Despliegue de e-Nefro en la nube

El siguiente paso ha sido desplegar el escenario anterior en la plataforma Azure. Se lanza una máquina virtual Ubuntu en la que está instalado Docker, y los contenedores de la aplicación E-nefro se arrancan en el host siguiendo el procedimiento del apartado anterior, por medio de la herramienta en línea de comandos de Azure. El tipo de instancia que se ha creado por defecto es una A1 Standard,

que tiene un núcleo y 1.75 GB de memoria RAM. Azure proporciona herramientas de autoescalado del servidor, lo que permitirá que las especificaciones de CPU y memoria se adapten en tiempo real en función del tráfico.

Para estudiar las facilidades de la nube se han realizado varias pruebas modificando los recursos destinados a esta instancia, configurando el cortafuegos y creando una imagen, a partir de la máquina virtual con E-nefro funcionando.

En esta ocasión por tanto el host estará en la instancia de Azure mientras que el cliente Docker (para la gestión) estará instalado en una máquina local con conexión a internet, que necesitará tener instalada la herramienta de Azure (63).

La Figura 3 muestra como a través del cliente se ejecutan comandos, tanto usando la API de Azure para crear la máquina virtual o editar los endpoints, como con el host de Docker dentro de la instancia para construir las imágenes y lanzar contenedores. Para poner disponible la interfaz web para acceso al servicio se crea un endpoint en el puerto 80, por supuesto esta configuración le es totalmente transparente al usuario final.

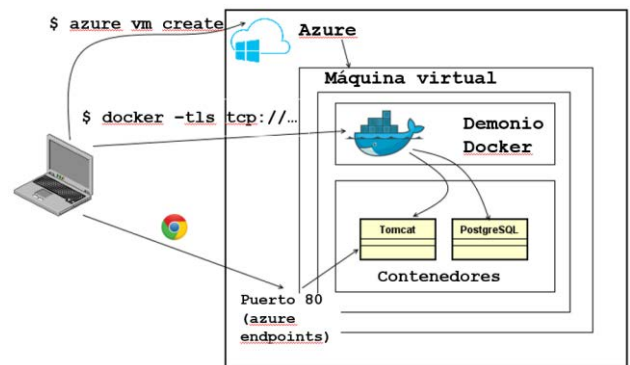


Figura 3. Arquitectura de la segunda solución

4.3. Despliegue de e-Nefro con Kubernetes

Los escenarios anteriores desplegaban E-nefro en un único servidor utilizando contenedores, primero de forma local y posteriormente en la nube, que permitía adecuar los recursos del servidor a las necesidades en cada momento (escalabilidad vertical).

En esta última solución se explota la escalabilidad horizontal, permitiendo añadir más instancias de servidores con el fin de mejorar el rendimiento, disponibilidad y fiabilidad. Para ello se ha hecho uso de la herramienta de orquestación de contenedores Kubernetes. Por medio de la replicación de pods se podrán reducir o aumentar en tiempo real el número de instancias de Tomcat o de PostgreSQL que se quieren en funcionamiento. En este caso se ha encontrado una limitación en la plataforma elegida: Kubernetes no ha implementado aún ninguna forma de lanzar volúmenes en Azure (aunque sí para las soluciones de Google y Amazon), de modo que lograr la persistencia se vuelve especialmente complejo.

Se monta primero el escenario, sin persistencia, que se presenta en la figura 4. Desde el master se controlan todas

las acciones. A través de la API el master mandará instrucciones a los kubelet de los dos nodos, y éstos crearán o destruirán los pods correspondientes. El proxy en este caso no es necesario ya que Kubernetes ofrece como funcionalidad el balanceo entre réplicas de pods.

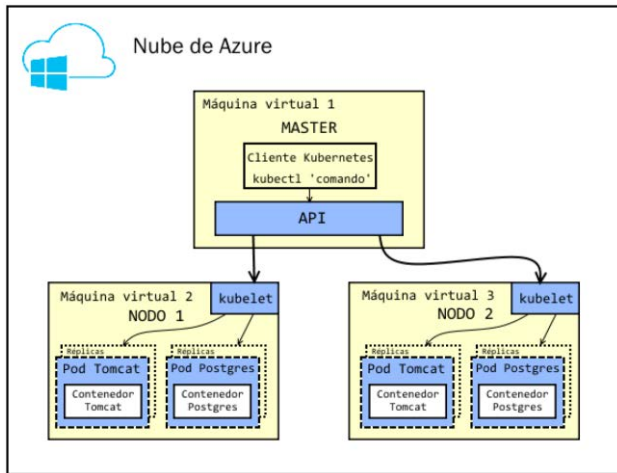


Figura 4. Arquitectura de la tercera solución

Para persistir la información en Azure se ha usado un volumen de tipo HostPath [10], que monta un directorio del nodo dentro del pod. Si se almacenan las tablas de la base de datos dentro de un directorio del nodo y este se monta cuando se inicializa un pod de PostgreSQL, se conservará la información. El inconveniente que acarrea esta implementación es que sólo se puede usar con un nodo.

5. Discusión y conclusiones

En este trabajo se han explorado las ventajas que pueden existir al desplegar e-Nefro en contenedores y en la nube y las dificultades que este proceso puede entrañar. Al separar cada componente en un contenedor se favorece la administración individual, permitiendo modificar los recursos destinados a cada uno según la demanda. La volatilidad en la vida de los contenedores hace que sean fácilmente reemplazables si aparece un error, evitando que se arrastre en el resto del sistema. El sistema resulta más ligero al incluirse tan solo las librerías y recursos que necesita cada servicio. Se pueden añadir nuevas funcionalidades de manera sencilla, como el proxy inverso, que permite el balanceo de carga.

Cuando se traslada el sistema de contenedores a una instancia en la nube se delega el mantenimiento de la infraestructura. Y nos beneficiamos de la elasticidad de la nube, pudiendo modificar los recursos de la máquina en tiempo real en función del tráfico. Creando una imagen cuando el sistema está en funcionamiento se puede clonar la aplicación en una nueva instancia.

Con una herramienta de orquestación como Kubernetes se aumenta el control sobre el sistema de contenedores. Este se encarga de monitorizar el estado de todos los servicios y mantener siempre la aplicación en funcionamiento. Cuando se despliega la aplicación en varias máquinas virtuales Kubernetes distribuye los contenedores entre

ellas de manera transparente y, si los servicios están replicados, se encarga de balancear.

La persistencia con contenedores ha resultado compleja al usar Azure como proveedor. Además, aunque Kubernetes ofrece scripts para el despliegue sencillo de un cluster en Azure, ha resultado complejo adaptarlo a necesidades específicas, como aumentar el número de nodos. Previsiblemente las prestaciones del servicio y su gestión mejorarían si se utilizara otra infraestructura de nube como la de Google o Amazon. Tras la finalización de este trabajo, ha sido publicado un servicio propietario de Azure para el despliegue de contenedores que puede facilitar esta labor.

Realizar el despliegue real de aplicaciones sanitarias en una infraestructura nube de proveedores externos requiere un análisis detallado de las implicaciones legislativas en cuanto a la seguridad y confidencialidad de la información sanitaria (como la LODP). El hecho de que la información esté almacenada en centros de datos del proveedor puede desaconsejar, o imposibilitar, este escenario totalmente externalizado. Con el fin de aprovechar las numerosas ventajas de estas tecnologías, se podrían utilizar nubes privadas o soluciones mixtas.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Fondo de Investigaciones Sanitarias del Instituto de Salud Carlos III en el marco del proyecto DTS15/00195 (Evalua-Nefro).

Referencias

- [1] Roa Romero, Laura María, Calvillo Arbizu, Jorge, Milan Martin, Jose Antonio, Salgueira Lazo, Mercedes, Aresté Fosalba, Nuria, et. al.: Sistemas de e-Salud para pacientes crónicos. En: I + S. Informática y Salud. 2016. Vol. 115. Pag. 14-20
- [2] Calvillo Arbizu, Jorge, Roa Romero, Laura María. Aproximación metodológica al diseño de un sistema de teleasistencia para pacientes en pre-diálisis y diálisis peritoneal. En: Nefrología. 2014. Vol. 34. Núm. 2. 10.3265/Nefrologia.pre2014.Jan.12115
- [3] Linux containers isolation. [Online] <https://blog.engineyard.com/2015/linux-containers-isolation>. (último acceso Septiembre 2016)
- [4] Norma Y.3500 de la ITU-T: Cloud Computing overview and vocabulary. Disponible en <https://www.itu.int/rec/T-REC-Y.3500-201408-I>.
- [5] Documentación en línea de Docker. <https://docs.docker.com/> (último acceso Septiembre 2016)
- [6] Docker Hub. <https://hub.docker.com/> (último acceso Septiembre 2016)
- [7] Página principal de Azure: <https://azure.microsoft.com/es-es/> (último acceso Septiembre 2016)
- [8] Documentación en línea de Kubernetes. <http://kubernetes.io/docs/> (último acceso Septiembre 2016)
- [9] Documentación en línea de Nginx. <http://nginx.org/en/docs/> (último acceso Septiembre 2016)
- [10] Documentación en línea de Kubernetes HostPath. <http://kubernetes.io/docs/user-guide/volumes/#hostpath>. (último acceso Septiembre 2016)

ÍNDICE DE AUTORES

A			
Antonio de Ramón A	523	Blanco Almazán D	105
Abbas Q	122	Blanco Prieto M.J.	156
Abella M	2, 126	Blanco Velasco M	576
Abrishami V.	333	Block K	568
Acha Piñero B	47	Bocancea D	118
Aguado Sarrió E	362	Borges M	568
Aguado-Sierra J	476	Borreguero S	211, 447
Aguiló J	22	Boscá Tomás D	147
Aja Fernández S	5	Bosch Roig I	375, 439, 459
Alberola López C	5, 177	Bote Curiel L	265, 447
Alberola-Rubio J	224, 366	Bragós Bardia R	326
Albert-Martínez R	215, 417	Bravo L	257
Alcañiz Raya M	101	Bresó A	503
Alcaraz Martínez R	190, 548	Brown A	568
Alcocer P	383	Bru Sanchis J	495, 499
Alemaný P	122	Budía Alba A	495, 499
Alfonso J	342	Bueno G	261, 387, 451, 455
Ali Wajahat	421	Bueno Orovio A	84
Almenara Masbernat M	139	Burgos R	451
Alonso E	540, 560	Burriel L	261
Álvarez González D	202, 228	Butakoff C	476
Amigó Borrás V	164, 479, 483	C	
Amigó Mata A	164, 479, 483, 487	Cabrera E	503
Ampuero J	447	Caiani E	194
Andreu I	168	Cajas J.C.	476
Andrzejak R.G.	314	Calabia del Campo J	177
Angulo Sherman I.N.	249	Callejón-Leblic M.A.	51
Antolinos Turpin C.M.	232	Callicó F	278
Apers L	568	Calpe Maravilla J	207
Aramendi E	540, 560	Calvillo Arbizu J	269, 584
Arana S	89, 156, 310	Calvo B	349
Arce Diego J.L.	423, 427	Calvo C. J.	412
Arévalo Díaz L	423, 427	Calvo F. A.	181
Arís R	476	Calvo Haro J. A.	55
Ariza-Gracia M.A.	349	Camañez Crespo J	147
Arnau M.A.	76	Cámara Vázquez M. A.	105
Arrranz A	302	Carminal P	396
Arranz Bárcena I	89	Campos-Pareja A. M.	211
Arza A	22	Candela C.	435
Asensio Cuesta S	503	Cano J	72, 80
Atienza F	298, 257	Cano M	240
Atienza Vicente C	342	Cano O	26
Azorín Poveda J.M .	249	Cano del Pozo M	198
		Carazo J. M.	330, 333
		Carreras J. L.	181
		Carretero Gómez L	274
		Casañas J. J.	13, 185
B		Casasnovas V	298
B.Reilly R	408	Casoni E	476
Bachiller Matarranz A	34, 198	Castells F	38, 412
Bailón R	22	Castillo Escario Y	105
Barbarov G	109, 580	Cava Rech A	495, 499
Bárcena Ruiz E	274	Cervera Ferri A	536
Barea Cañizares A	219	Cervigón R	408
Barrachina Martínez I.	358	Chausa P	568
Barriuso Medrano C	207	Chicote B	540
Barroso García V	202, 228	Chil R	421
Bataller Mompeán M	536	Ciaramella E	421
Bayés-de-Luna A	194	Clancy C.E.	72
Bayés-Genis A	396	Clara Trujillo S	232
Bayo-Monton J.L.	564, 572	Climent A. M.	84, 215, 290, 298
Begovac J	568		
Benalcazar Parra C	224, 366		
Bermejo Peláez D	370		

Coll Guich N	326	Fondón I	9, 13, 122, 185
Colomer A	379	Fontenla A	412
Conesa P	330	Francés Villora J. V.	536
Corrales M. J.	261, 387	Fresno M	302
Cossu G	421	Fuentes L	298
Crespo Sedano A	202, 228		
Cuenca J	330	G	
Cuervo M	55	Gabaldón Sanchez M. V.	467
Curto S	491	Galán B	13, 185
Cygankiewicz I	194	Galbis A	26, 532
		Galdámez Cruz O	109
D		Galdos G	540
de Juan Ripoll C	101	Galiano Á	322
de la Torre Costa J	290	Gallego R	447
de la Rosa Trevín J. M.	330, 333	Gallego Ferrer G	232
de Luis García R	177	Gárate Barreiro F. J.	143
de Molina Gómez C	2	García-Sánchez A	552
de Ramón A	519	García C	435
Dearn K	253	García E	261
del Álamo J. M.	294	García J. C.	345
del Campo Matías F	202, 228	García J. L.	511
del Cano L	330	García-Darás M	282
del Ser J	560	García P	261
Desco Menéndez M	2, 55, 59, 63, 118, 126, 181, 302	García Alberola A	576
		García Casado J	224, 366
Díaz-Pinto A	383	García de Eulate R	322
Domínguez J	338	García de Gurtubay I	42
Dulay S	93	García de Villa S	345
Dux Santoy Hurtado L.	318	García Escolano A	471
		García Gadañon M	34, 173, 198
E		García García R	30
Elizalde M. R.	168	García González M. A.	135, 219
Elola A	560	García Molina A	511
Enguix Chiral B	487	García Noguer A. I.	9
Escario-Méndez A	544	García Novoa J. R.	17
Escribà del Arco M	564	García Ocaña I	463
Espejo Carrizo MdR	17	García Rudolpf A	143
Espinosa-Aranda J. L.	451	García Teruel M	190
Estévez Piorno J	244, 556	García Vázquez V	55
Estrada L	244, 556	García-Alberola A	544
Evers Villalba E	576	García-Mato D	59
		García-Miquel A	306, 491
F		García-Olmo D	59
Fanjul Vélez F	423, 427	García-Rojo M	455
Felipo Ortiz V	30	García-Sevilla M	63
Fernández C	26, 532	García Gomez J. M.	503
Fernández Avilés F	298	Garzón J. M.	22
Fernández Seara M. A.	322	Gavira Saéz R	447
Fernández Granero M. A.	122	Gil E	22
Fernandez Chimeno M	135, 219	Gil Reina E	269
Fernández Frías A	527	Gila Usero L	42
Fernández Giménez E	330	Gilart V	519, 523
Fernández Lucas A	404	Gimeno Blanes F. J.	576
Fernández Avilés F	84, 257	Gimeno-Blanes J	544
Fernández-Carrobbles M M	451, 455	Giraldo B. F.	278, 396, 552
Fernández Jiménez L	51	Glaysheer B	568
Fernández Llatas C	572	Gómez A	342
Ferrer A	362, 515	Gómez C	240
Ferrer Mileo V	135, 219	Gómez E. J.	139
Ferrero J. M.	282, 471	Gómez L	298
Figueras Marí L	160	Gómez Aguilera E. J.	17, 143, 274, 511,
Figueruelo Martínez M	400		568
Flores Yepes J. A.	576	Gómez Blanco J	330, 333
Fogagnolo J.B.	479	Gómez García P	302

Gómez Martínez M	306	Julián S	278
Gómez Peña C	198, 400, 404	Juste B	435
Gómez Pilar J	198, 400	Juste Vidal B	151
Gómez Ribelles J. L.	232		
Gómez Romero F	584	K	
Gómez Gaviro M. V.	118	Kheirandish Gozal L	202, 228
Gomis Tena J	80	Konstantinou G	421
Goñi I	322	Kontaxis S	22
González Álvarez A	253		
González Cebrián A	515	L	
González A. B.	447	Lacalle H	286
González D. M.	97	Lafuente C	511
González Fernández Y	156	Laguna Lasaoa P	22, 194, 392
González López L	455	Lanceros-Méndez S	232
Gozal D	202, 228	Landaeta L. C.	181
Granero Enzinas J	447	Lanzagorta A	383
Gregorio Pérez J	447	Lario Femenia J	164
Guede Fernández F	135, 219	Lavilla Miyasato M	30
Guerrero Martínez J	30, 536	Lázaro J	22
Guillem M. S.	84, 215, 290, 298, 417	Ledesma Carbayo M. J.,	63, 370
		León A	568
Gutiérrez L	431	León Jordán J	236
Gutierrez-Carretero E	211	Liberos A	84, 257
Guixeres Provinciale J	101	Lillo M	519
Gutiérrez Martín A	536	Lizarraga S	63
Gutiérrez Tobal G. C.	202, 228	Lizondo García A	572
		Llorente Aguado T	544
H		López D	278
Haro M	483, 487	López M	476
Henwood F	568	López S	261
Hernandez I	84	López Acon D	495, 499
Hernández Romero I	298	López Gálvez M. I.	173
Hernández Villegas Y	354	López Guerra J. L.	47
Hernando A H	22	López Marin A	211
ernando M. E.	139, 143	López Mora S	358
Herrera J. M.	342	López Zaragoza R. E.	13
Herrero-Conde M	63	López del Rio Á	507
Higuera Trujillo J. L.	101	López Gil M	412
Hisey C L	156	López Hernández F. J.	431
Hornero Sánchez R	34, 173, 198, 202, 228, 240, 400, 404	López Velazco R	59, 63
		López-Villegas J. M.	491
Hortelano Rubio M	408	Lorduy M.	435
Houzeaux G	476	Lorrio M. T.	118
		Luna Serrano M	17
I			
Iáñez Martínez E	249	M	
Igual Muñoz B	38	Macias P	126
Imbuluzqueta E	156	Maestre Antequera J	265
Irusta U	540, 560	Magdalena Benedito R	30
Isasi I	540	Malanda A	42
		Mandalia S	568
J		Mañas García A	147
Jané R	105, 244, 556	Manco Lavado F	173
Jonic S	333	Manso M	181
Jiménez R	532	Maqueda-González M	507
Jiménez S	122	Marabini R	330, 333
Jiménez Contreras A. J.	13	Marco S	286
Jiménez Moya A	387	Marcos D	519, 523
Jiménez Serrano S	38, 412	Marotta F	68
Jordán Alfonso A	358	Martí Bonmatí L	362
Juanola A	278	Martín Benito J	333
Julià J	412	Martín González L	400
Julià Sapé M	354	Martín Ramos Á	333

Martín Yebra A	194	Opisso E	139, 143
Martínez J. P.	194	Ordaz Jurado G	495, 499
Martínez Bellver S	536	Ordoñez A	211
Martínez Climent A	257, 417	Ordoño Domínguez J. F.	30
Martínez Hinarejos C. D.	38	Orini M	392
Martínez Iniesta M	548	Ortega López M	59
Martínez Ricós J	536	Ortega Morán J. F.	265
Martínez Sánchez C	2	Ortigosa N	26, 532
Martínez Torres I	536	Ortillés Á	349
Martínez-Millana A	564, 572	Osca J	532
Martino M. E.	181	Otón J	330, 333
Mas Cabo J	224, 366	P	
Mateu Mateus M	219	Paci M	68
Maturana A	72	Pagador J. B.	265, 447
Medina J	139	Pajares A	338
Melero R	330, 333	Pajares Ruiz V	326
Melgarejo Meseguer F. M.	576	Palacio García L	314
Merino Barbancho B	431	Paredes J	310
Mico Beneyto J	224	Pascau J	55, 59, 63, 181
Millán Navarro C	207	Pastor M	80
Millet Roig J	38, 412	Pastor Sánchez C	387
Mir M	93	Pedraza A	455
Miranda P	338	Peñaranda F	130
Miró R	151, 435	Peñuelas A	342
Mitxelena Iribarren O	156	Perales Marin A	224, 366
Mocioiu V	354	Peralta Fernández M	387
Molina F	139	Peredo Robinson V	330
Molins Bordallo Z	576	Perera-Lluna A	507
Monfort Orti R	224	Pérez Carrasco J. A.	47
Monasterio V	471	Pérez Lorenzo E	89
Montesinos M. L.	13, 185	Pérez Mañanes R	55
Montoliu Félix C.	30	Pérez Pelegrí M	439
Mora Fenoll M. T.	471	Andrés Picó J	515
Mora-Macías J	338	Piella Fenoy G	318
Morales S	114, 379, 383	Pierce D. M.	463
Morales Rondón A. A.	310	Pla Terrada O. A.	215
Morató S	151, 435	Planchuelo A	443
Moyano García-Cuevas J. L.	447	Poza Crespo J	34, 198, 240, 400, 404
Mujika M	89, 156	Prakash P	491
Muñoz Fernández A. A.	326	Prats J. M.	515
Muñoz Romero S	544	Prats Boluda G	224, 366
Muñoz-Barrutia A	126, 181	Prats Montalbán J. M.	362
Muñoz Hernando M	126	Prchkovska V	314
N		Prieto F	333
Naranjo D	580	Prieto R. E.	503
Naranjo V	114, 130, 379, 383	Pueyo Paules E	392
Naranjo Alcázar J	459	R	
Naranjo Hernández D	109	R. Horche P.	431
Navallas J	42	Ràfols de Urquía M	244, 556
Navas Calvente J	333	Ramírez J	523
Nehrhoff I	118	Ramírez García J	392
Noguera R	451	Ramón Valencia J. L.	552
Núñez I	447	Ramos Castro J	135
Núñez P	198, 240, 400, 404	Ramos Castro J. J.	219
O		Ravens U	84
Olabarria M	540	Reilly R	286
Ontiveros J	139	Reina L. J.	109, 580
		Reina-Romo E	338

Reina-Tosina J	51	Sánchez Margallo F. M.	265, 447
Revilla-Orodea A	5	Sánchez Sorzano C. O.	330, 333
Ribeiro C	232	Sánchez-González P	463
Rienda Moreno M. Á	387	Sánchez-Peralta L. F.	447
Riera Ibáñez J. J.	190, 548	Sanjuan A	523
Ríos B	443	Santamaría C	76
Ripoll J	118, 302	Santamarta Gómez D	34
Riu Costa P. J.	326	Santiago A	476
Riverol M	322	Santiago Behobide M	89,168
Roa Romero L. M.	51, 109, 269, 580, 584	Sanz F	80
Robles Viejo M	147	Sanz Requena R	362, 375, 439, 459
Roca Dorda J	552	Sanz Sánchez J	38
Roca-Rodríguez E	507	Sanz-Estébanez S	5
Ródenas García J	190, 548	Sarmiento A	13, 122, 185
Rodiera J	278	Schiaffino L	536
Rodrigo M	84, 215, 290, 417	Segovia López E. F.	164
Rodrigues P	314	Serrano I	451, 455
Rodríguez B	84	Serrano Gotarredona C	47
Rodríguez E. A.	181	Severi S	68
Rodríguez J	396	Sevilla T	5
Rodríguez R	443	Sharpe S	126
Rodríguez Y	532	Shepherd D	253
Rodríguez Colmenares M. A.	423	Silvestre Gómez M	185
Rodríguez Lozano G	55	Simarro Mondejar E	412
Rodríguez Matas J. F.	349, 471	Solá Ruiz M. F.	487
Rodríguez Palomares J. F.	318	Solana Sánchez J	143, 511
Rodríguez Perez J. M.	479	Soriano A	519, 523
Rodríguez Poyo M	400	Soriano I	139
Rodríguez Trujillo R	160	Stamatakis K	302
Rodríguez Ugarte M S	249	Suárez Mejías C	47
Rodriguez Vila B	17, 274		
Rodríguez-Carreño I	42	T	
Rodríguez-Falces J	42	Tadeo I	451
Rodríguez-Lozano G	59	Tahirbegi I. B.	93
Rodriguez-Vila B	463	Talaminos A	580
Rojo Álvarez J. L.	544, 576	Taylor T	286
Román Martínez I	269, 584	Teruel Martí V	536
Romero L	72, 76, 80	Tinoco Carrillo R	447
Romero M	447	Tola Arribas M. A.	198, 240
Romero Oraá R	173	Tormos J. M.	17, 139, 511
Rosado Muñoz A	536	Torrecilla Moreno C	101
Rosell-Ferrer J	211	Torrego Fernandez A	326
Royuela-del-Val J	5	Torres A	244, 556
Rubio P	536	Torres I.	435
Rubio Pons J	211	Torres S	379
Ruiz Fernández D	519, 523, 527	Trassiera Villa M	495, 499
Ruiz J	97	Traver Salcedo V	564, 572
Ruiz S. J.	240	Treceño Fernández D	177
Ruiz de Gauna S	97	Trenor Gomis B. A.	68, 236, 467
Ruiz Gómez S. J.	400, 404	Tucker J. D.	392
Ruiz Muñoz A	318		
S		V	
Sacco F	476	Vanaclocha V	342
Saéz C	503	Vaquerizo Villar F	202, 228
Saiz J	80	Vaquero J	55, 118
Samitier J	93, 160	Vaquero J. J.	118, 126, 302, 421
San Andrés M	114	Vargas J	330, 333
San José Estépar R	370	Vázquez M	476
Sánchez C	443	Vázquez Martínez S	375, 459
Sánchez P	139	Velasco D	257
Sánchez Carrión R	143	Verdú G	435
Sanchez Gonzalez P	17	Verdú Martín G. J.	151
		Vicente Escuder A	164, 479, 483, 487

Vidal N.	306, 491
Vidorreta M	322
Vilas J. L.	330, 333
Villalobos A	294
Vivas Consuelo D	358, 495, 499
Vives V	519, 527
Voss A	396

W

Wallitt E	568
Whetham J	568

Y

Ye Lin Y	224, 366
Yébenes B	443
Yilmaz Atay H	483

Z

Zorio E	76
Zorio Grima E	38
Zubieta J. L.	322
Zufiria B	302



CASEIB
2016
XXXIV
Congreso Anual
de la Sociedad
Española de
Ingeniería
Biomédica

AVALADO POR:

International Federation for Medical and Biological Engineering



PATROCINADO POR:

