



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

– **TELECOM** ESCUELA
TÉCNICA **VLC** SUPERIOR
DE **UPV** INGENIEROS DE
TELECOMUNICACIÓN

Análisis de imágenes oftalmológicas de Tomografía por Coherencia Óptica OCT

Belén Villanueva Coello

Tutor: José Manuel Mossi

Cotutor: Sandra Morales Martínez

Trabajo Fin de Máster presentado en la
Escuela Técnica Superior de Ingenieros
de Telecomunicación de la Universitat
Politècnica de València, para la obtención
del Título de Máster en Ingeniería de
Telecomunicación

Curso 2016-17

Valencia, 12 de septiembre de 2017

Resumen

Resumen

El presente Trabajo Final de Máster (TFM) del Máster Universitario en Ingeniería de Telecomunicación, relacionado con la medicina y en concreto con la oftalmología, se encuentra englobado en un proyecto de investigación de ámbito europeo llamado GALAHAD. En éste se quiere desarrollar un nuevo sistema de ayuda al diagnóstico de la enfermedad denominada glaucoma con unas prestaciones mayores que los sistemas existentes hasta el momento. Con este propósito se emplea el dispositivo que proporciona la OCT, Tomografía por Coherencia Óptica, mediante el cual se obtiene información estructural de la retina, una capa situada en la zona posterior del ojo que se encuentra formada por diferentes tejidos en forma de capas. Concretamente el glaucoma puede ser diagnosticado en sus primeras fases, mediante este tipo de tomografía, debido al adelgazamiento en la zona del disco óptico de una de las capas de la retina denominada RNFL (*Retinal Nerve Fiber Layer*).

Lo que este proyecto trata de conseguir es un algoritmo mediante el cual se obtengan datos cuantitativos automáticamente, facilitando así al médico realizar el diagnóstico. Así pues, el algoritmo se basa principalmente en el concepto de segmentación de imágenes, con el fin de conocer perfectamente los límites superior e inferior de la capa en cuestión. Una vez conocidos, se pasa a realizar el cálculo del espesor de la RNFL con tal de compararlo con una base de datos en la que se encuentran almacenadas las medidas tomadas a un conjunto de pacientes de referencia. Después de esta comparación, el médico ya puede distinguir entre un ojo sano o enfermo según si se encuentra dentro o fuera de los límites de la distribución.

Resum

Aquest Treball de Fi de Màster (TFM) del Màster Universitari en Enginyeria de Telecomunicació, el qual té relació amb la medicina i més concretament amb l'oftalmologia, es pot englobar dins d'un projecte d'investigació d'àmbit europeu nomenat GALAHAD. Aquest tracta de desenvolupar un nou sistema d'ajuda al diagnòstic del glaucoma amb unes prestacions superiors a les que posseeixen els sistemes ja existents. Amb aquest propòsit s'empra el dispositiu que proporciona l'OCT, Tomografia per Coherència Òptica, mitjançant el qual s'obté informació estructural de la retina, una capa situada en la zona posterior de l'ull formada per diferents tipus de teixits formant capes. Concretament el glaucoma pot ser diagnosticat en les primeres fases, per mitjà d'aquest tipus de tomografia, degut a la reducció de l'espessor en la zona del disc òptic d'una de les capes de la retina: RNFL (*Retinal Nerve Fiber Layer*).

El que tracta d'aconseguir aquest projecte és un algorisme a través del qual s'obtinguen dades quantitatives automàticament i faciliten al metge realitzar el diagnòstic. L'algorisme està basat principalment en el concepte de segmentació d'imatges, amb la finalitat de conèixer perfectament els límits superior i inferior de la capa en qüestió. Una vegada coneguts, es passa a realitzar el càlcul de l'espessor de la RNFL amb l'objectiu de comparar-lo amb una base de dades en la qual es poden trobar emmagatzemades les mesures d'un conjunt de pacients de referència. Després d'aquesta comparació, el metge ja és capaç de distingir entre un ull sa o malalt en funció de si es troba dins o fora dels límits de la distribució.

Abstract

The present thesis of the Master's Degree in Telecommunication Engineering, related to medicine and more specifically with ophthalmology, is included in a European research project called GALAHAD. It tries to develop a new system of aid to diagnose the disease known as glaucoma, with greater capabilities than the existent so far. The device OCT (Optical Coherence Tomography) is used for this purpose, because it is able to provide structural information of the retina, located in the posterior area of the eye and formed by different tissue layers. Specifically, glaucoma can be diagnosed in its early stages with this type of tomography, due to the thinning in the area of the optic disc of the layer of the retina called RNFL (Retinal Nerve Fiber Layer).

The aim of this project is to obtain an algorithm by which the quantitative data is automatically obtained, helping the doctor with the diagnosis. The algorithm is mainly based on the concept of image segmentation, allowing to visualize the upper and lower limits of the layer in question. Once known, the calculation of the thickness of the RNFL is made and also a comparison with a database in which the reference measurements are from a group of patients. After this, the ophthalmologist is capable of distinguishing between a healthy eye or an unhealthy one.

Índice

| | |
|---|----|
| 1. Introducción..... | 7 |
| 1.1. Introducción..... | 7 |
| 1.2. Motivación..... | 8 |
| 1.3. Objetivos | 9 |
| 2. Marco teórico | 10 |
| 2.1. Ojo humano | 10 |
| 2.1.1. Anatomía del ojo | 10 |
| 2.1.2. Retina..... | 12 |
| 2.2. Glaucoma | 17 |
| 2.2.1. Diagnóstico..... | 18 |
| 2.3. Tecnología OCT | 19 |
| 2.3.1. Introducción..... | 19 |
| 2.3.2. Interferómetro de Michelson | 25 |
| 2.3.3. Dispositivos actuales..... | 35 |
| 3. Algoritmos empleados..... | 39 |
| 3.1. Algoritmo minimal path..... | 40 |
| 3.1.1. Principio básico | 41 |
| 3.1.2. Función distancia general (GDF)..... | 42 |
| 3.1.3. Global minimal path (GMP)..... | 44 |
| 3.2. Algoritmo de segmentación automática de la capa RNFL | 47 |
| 3.2.1. Principio básico | 49 |
| 3.2.2. Algoritmo general de segmentación | 50 |
| 3.2.3. Algoritmo específico de segmentación de 7 capas | 53 |
| 4. Adaptación de los algoritmos..... | 56 |
| 4.1. Algoritmo minimal path..... | 56 |
| 4.1.1. Localización de la capa RPE+Ellipsoid..... | 57 |
| 4.1.2. Minimal path empleando mex..... | 58 |
| 4.2. Algoritmo de segmentación automática de la capa RNFL | 60 |
| 4.2.1. Espesor RNFL, RNFLT (<i>Retinal Nerve Fiber Layer Thickness</i>) | 60 |
| 4.3. Informe..... | 62 |
| 4.3.1. RNFL <i>Thickness Map</i> | 63 |
| 4.3.2. Tomograms..... | 64 |
| 4.3.3. RNFL Thickness y representación en cuadrantes | 67 |
| 5. Resultados..... | 69 |

| | | |
|--------|--|----|
| 5.1. | Tomografías | 70 |
| 5.1.1. | Vertical | 70 |
| 5.1.2. | Horizontal | 71 |
| 5.1.3. | Circular..... | 72 |
| 5.2. | Segmentación..... | 72 |
| 5.2.1. | Segmentación manual..... | 72 |
| 5.2.2. | Segmentación minimal path | 73 |
| 5.2.3. | Segmentación automática de siete capas de la retina en SDOCT | 75 |
| 5.3. | Informe final..... | 76 |
| 6. | Conclusiones y líneas futuras..... | 82 |
| 6.1. | Conclusiones | 82 |
| 6.2. | Líneas futuras..... | 84 |

Capítulo 1

Introducción

1.1. Introducción

Las telecomunicaciones son una parte fundamental de la vida en el mundo actual. Se han convertido para las personas en algo cotidiano y, en ocasiones, imprescindible para ellas. La tecnología relacionada con las telecomunicaciones, además, se encuentra presente en la mayoría de los ámbitos de la vida, tanto laborales como personales. Pero no sólo es fuente de diversión y entretenimiento, sino que puede ayudar a llevar una vida más fácil y a mejorar la calidad de vida de las personas.

En este sentido, la medicina y las telecomunicaciones se encuentran cada vez más relacionadas. La medicina, es una ciencia que estudia la vida del ser humano, así como la salud y las enfermedades del mismo. Además esta ciencia trata de preservar y en su caso mejorar la salud de las personas, mediante el tratamiento de las posibles enfermedades. En este ámbito, cada vez es más común la integración con la tecnología en general y las telecomunicaciones en particular, con el fin de acelerar procesos de diagnóstico y prevención de enfermedades. Más concretamente, la parte de la Ingeniería de Telecomunicaciones relacionada con el procesado de señal, imagen y video, tiene una importante relación con la medicina, ya que mediante su uso se puede generar o mejorar sistemas de ayuda al diagnóstico. Para el desarrollo de estos sistemas, CAD (del inglés, *computer-aided diagnosis*), se hace uso de tratamiento de imagen médica, como en el caso de este proyecto.

Estos sistemas CAD, como su nombre indica, tratan de ayudar al médico y mejorar la capacidad de diagnóstico, acelerar el proceso y además reducir en cierto modo la subjetividad inherente al mismo. Por ejemplo, el resultado de medidas de dimensiones de estructuras anatómicas es obtenido mediante software (no las mide el médico manualmente) así que de esta manera se obtiene automática y

subjetivamente información sobre la enfermedad del paciente, así como un control de la evolución de forma precisa. Algunos ejemplos de imagen médica que se emplean en estos sistemas son tomografías, resonancias o, como en el caso de este proyecto, imagen de fondo de ojo y Tomografía por Coherencia Óptica (OCT) del mismo.

El presente proyecto, se encuentra relacionado con todos los conceptos expuestos. Se trata del inicio y una pequeña parte de un proyecto europeo de mayor envergadura llamado GALAHAD, en el cual colaboran distintas instituciones, empresas y universidades de ámbito europeo con el fin de generar un equipo OCT de nueva generación que mejore los existentes hasta el momento. Básicamente un dispositivo OCT emplea la Tomografía de Coherencia Óptica para controlar y realizar un seguimiento de la enfermedad oftalmológica que se trate, como podría ser el glaucoma. Mediante las imágenes que proporciona este equipo, se observan las capas histológicas¹ de la retina. A continuación, en los posteriores capítulos se explica en detalle el funcionamiento de estos dispositivos así como su importancia en el diagnóstico precoz de enfermedades oftalmológicas.

1.2. Motivación

La motivación de este proyecto viene dada por la posibilidad de ayudar a mejorar sistemas de diagnóstico precoz de enfermedades, como por ejemplo el glaucoma. El glaucoma, tal y como se detalla en el proyecto, se trata de una enfermedad oftalmológica producida en cantidad de casos por el aumento de la tensión ocular, la cual puede generar ceguera parcial e incluso total. Por ello resulta tan importante contar con unos métodos precisos y eficientes de diagnóstico, con el fin de frenar el desarrollo de la enfermedad así como evitar en el paciente daños irreversibles.

Existen diversos estudios clínicos en relación con el diagnóstico de esta enfermedad. Gran cantidad de ellos se basan en el análisis de las diferentes capas de la retina. Concretamente, el espesor de la capa RNFL (*Retinal Nerve Fiber Layer*) medido en la zona del disco óptico está muy relacionado con el glaucoma, ya que el adelgazamiento de la misma es un síntoma que se produce en las primeras fases de la enfermedad. También, el espesor macular puede emplearse como medidor de la progresión de la enfermedad, así como el adelgazamiento de la capa llamada GCL (*Ganglion Cell Layer*), que estudios recientes también han relacionado con el glaucoma.

Pese a haber diferentes indicativos y síntomas de la enfermedad, el más común y generalizado que se emplea para un diagnóstico precoz es el espesor de la capa RNFL, el cual va a ser analizado en el desarrollo del presente proyecto. Para este análisis, se parte de imágenes obtenidas mediante dispositivos OCT, en las cuales se segmenta y calcula el espesor de la capa RNFL con el fin de conocer si se produce un adelgazamiento de la misma a lo largo del tiempo. Además, se obtienen los resultados de las diferentes partes del informe o reporte que generan estos dispositivos para la posterior interpretación del médico

¹ La histología es la disciplina médica que estudia los tejidos orgánicos, su estructura microscópica a nivel celular.

1.3. Objetivos

El principal objetivo es, a partir de los datos generados por el dispositivo OCT, obtener una segmentación de capas de la retina. De esta forma se podrá medir el grosor de las mismas y determinar si el ojo está enfermo o sano, comparándolo con una base de datos que cada fabricante de equipo OCT posee. Para su medición, es necesario emplear métodos de tratamiento de imagen y señal, como por ejemplo la segmentación, diezmado, interpolado, filtrado, entre otros procesos. A continuación se expone la correlación de diferentes objetivos a menor escala.

En primer lugar en este proyecto se estudia el funcionamiento detallado del dispositivo OCT, así como la física y la óptica empleada por el mismo, explicando diferentes ejemplos a partir de situaciones sencillas y básicas. Así pues, tal y como se desarrolla en capítulos posteriores, el equipo OCT emplea luz infrarroja no dañina dirigida hacia el ojo, concretamente a la retina. Se trata de medir la cantidad de luz que refleja cada capa, ya que las capas que forman la retina tienen unas características diferentes y por tanto reflejan de forma diferente. Partiendo de la información obtenida mediante las reflexiones en diferentes puntos se forma la imagen OCT, que posteriormente será procesada mediante algoritmos de segmentación de capas.

En cuanto al tratamiento de la imagen en sí, también se debe tener en cuenta que existe una dificultad añadida, ya que se trata de imágenes OCT muy corrompidas por ruido de puntos (ruido granular) y con una calidad muy mala que hace complicadísimo el proceso de segmentación manual y, más aún, automático. Para tratar de mejorar la imagen a analizar es necesario algún tipo de pre-procesado con el fin de reducir el efecto de ruido, sin embargo, el proceso de eliminación del mismo produce efecto de suavizado de los bordes que a su vez hace más difícil la segmentación. Además del ruido, las imágenes OCT pueden quedar afectadas por sombras ópticas provocadas por la presencia de vasos sanguíneos y otros artefactos (movimiento, iluminación reducida, etc.) y esto puede producir una pequeña variación a lo largo del borde de la capa. Todos estos efectos hacen que el hecho de la segmentación de las capas conlleve un gran reto.

Este tipo de algoritmos de segmentación, se basan en el hecho de que cada capa intrarretinal está delimitada por dos superficies, en las cuales se puede ver una transición de oscuro a claro o de claro a oscuro, las cuales se emplean como punto de partida para la segmentación. Finalmente, y una vez la imagen ha sido procesada y segmentada, se trata de obtener los diferentes tipos de medidas que aparecen en los informes que los equipos OCT generan, como por ejemplo la representación 2D del espesor de la RNFL alrededor del disco óptico o la representación del espesor medio en cuadrantes.

Para la realización del proyecto, se ha trabajado con imágenes y datos volumétricos obtenidos mediante equipos del fabricante *Topcon*, concretamente el dispositivo de la serie *3DOCT-2000*, de la base de datos del proyecto europeo GALAHAD así como algunas imágenes de bases de datos de otros grupos de investigación, tomadas con un equipo diferente.

Todo este proceso explicado brevemente se ha realizado mediante el uso de la herramienta Matlab principalmente con funciones y lenguaje de programación nativo, así como archivos mex y lenguaje de programación C.

Capítulo 2

Marco teórico

En este capítulo se expone el marco teórico en el cual se realiza una introducción a todos los conceptos relevantes para este trabajo. Algunas partes importantes serían: la anatomía del ojo, la retina, la enfermedad glaucoma y el dispositivo OCT.

2.1. Ojo humano

El ojo humano es el órgano que se encarga del sentido de la vista, básicamente se trata de un detector de luz. Su función por tanto, es transformar la energía lumínica en eléctrica, que más tarde es enviada al cerebro en forma de señales eléctricas a través del nervio óptico.

2.1.1. Anatomía del ojo

En este proyecto resulta de vital importancia conocer la anatomía básica del ojo así como sus funciones, de manera que se realiza un repaso de la misma con el fin de conocer de forma precisa de qué parte del ojo trata el documento en cada una de sus partes. Para la descripción de la anatomía del ojo humano, se pasa a explicar las partes de mayor importancia: en primer lugar de la parte exterior o visible y en segundo lugar de la parte interior.

La parte anterior y visible del ojo está formada por una cubierta rígida blanca llamada esclera, que sirve para proteger el ojo, y un recubrimiento en forma de membrana clara llamada conjuntiva. En esta parte visible, se encuentra también la córnea, una fina capa protectora transparente que cubre el iris y la pupila y, además, permite que la luz pueda penetrar al interior. La parte más característica visualmente del ojo es el iris, ya que es la parte de color del ojo. Finalmente, la pupila sirve como diafragma, es decir, se expande o contrae en función de la luz que debe entrar al ojo, regula la cantidad de luz.

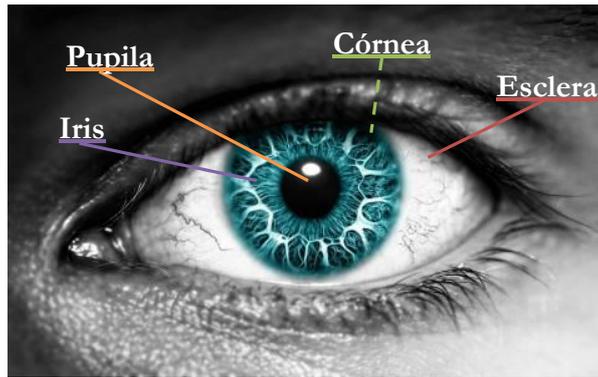
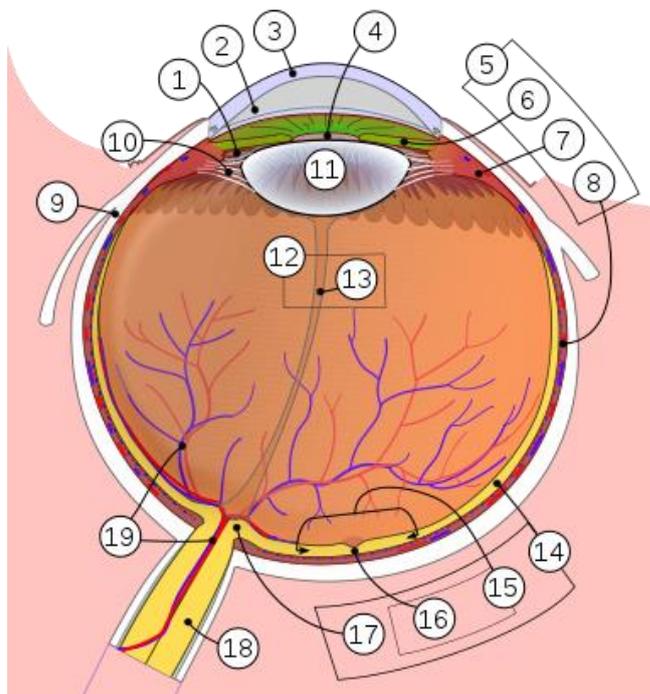


Figura 1. Ojo humano. Principales partes visibles.

Internamente el ojo está repleto de diferentes líquidos acuosos, que son los que generan presión ocular en caso de no encontrarse bien drenados. En primer lugar, el espacio que queda entre el cristalino y la retina está lleno de un gel transparente llamado humor vítreo. En segundo lugar, se encuentran dos cavidades más pequeñas situadas en la parte frontal del ojo en las cuales también se puede encontrar otro tipo de líquido, llamado humor acuoso. La cámara anterior se encuentra entre la córnea y el iris, y la cámara posterior entre el iris y el cristalino. La presión en estas dos cámaras resulta relevante para el funcionamiento normal del ojo.



| |
|--|
| 1. Cámara posterior |
| 2. Cámara anterior |
| 3. Córnea |
| 4. Pupila |
| 5. Úvea |
| 6. Iris |
| 7. Cuerpo ciliar |
| 8. Coroides |
| 9. Esclerótica |
| 10. Ligamento suspensorio del cristalino |
| 11. Cristalino |
| 12. Humor vítreo |
| 13. Conducto hialoideo |
| 14. Retina |
| 16. Fóvea |
| 17. Disco óptico |
| 18. Nervio óptico |
| 19. Vasos sanguíneos de la retina |

Figura 2. Diagrama del ojo humano (sección horizontal del derecho visto desde arriba).

Además de los líquidos acuosos, también se puede encontrar en el interior del ojo diferentes componentes anatómicos imprescindibles para el proceso de visión. El cristalino es un cuerpo transparente que se encuentra justamente detrás del iris, se trata de una especie de lente que, como las lentes físicas empleadas en cámaras fotográficas, permite la visión nítida en todas las distancias, es decir,

que lleva a cabo el proceso de enfoque de las imágenes. Por último la retina, que supone la parte más relevante para el presente proyecto, está formada por gran cantidad de células sensibles a la radiación luminosa, y es el punto, por tanto, donde el cristalino debe realizar el enfoque con tal de que en ella se genere la imagen del objeto de la manera más nítida posible.

El proceso óptico que permite la visión de objetos visibles que se encuentran en el mundo exterior se pone de manifiesto en la siguiente imagen, Figura 3:

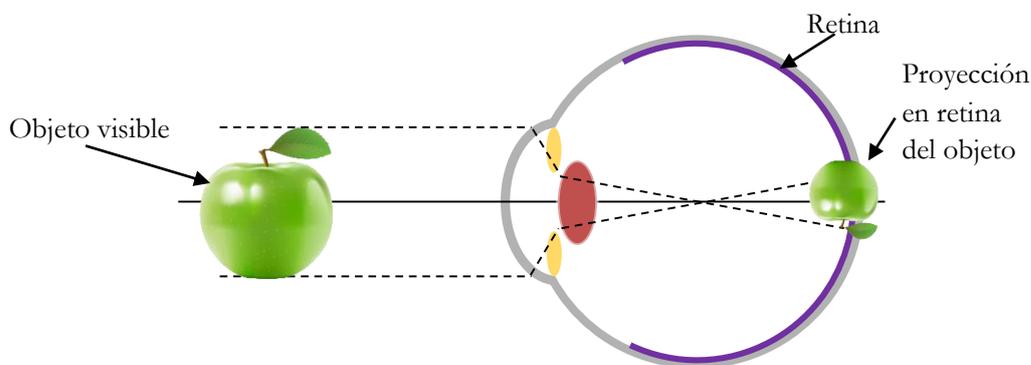


Figura 3. Esquema de la óptica del ojo humano.

La manzana a la cual el individuo está dirigiendo la mirada es enfocada sobre la retina, pasando en primer lugar por la córnea y más tarde el cristalino, pero como se puede observar, de manera invertida. Aunque sea proyectada de esta forma, más tarde el cerebro humano al procesarla la interpreta de forma correcta, es decir el individuo ve la manzana como se encuentra en la realidad. Por otra parte, el diámetro del haz de luz que incide sobre el cristalino es controlado mediante el iris, el diafragma del ojo, y la abertura que el mismo genera, pupila. El diafragma es un componente muy importante que afecta a un amplio rango de procesos ópticos.

Se llama proceso de acomodación al procedimiento mediante el cual los músculos ciliares, que se encuentran en el iris, modifican la curvatura del cristalino y por tanto modifican la forma de la lente. Esto produce un cambio en la posición del foco y hace que se pueda enfocar un objeto cercano al ojo. Es importante saber que cuando estos músculos se encuentran relajados el ojo enfoca al infinito, es decir, a objetos lejanos.

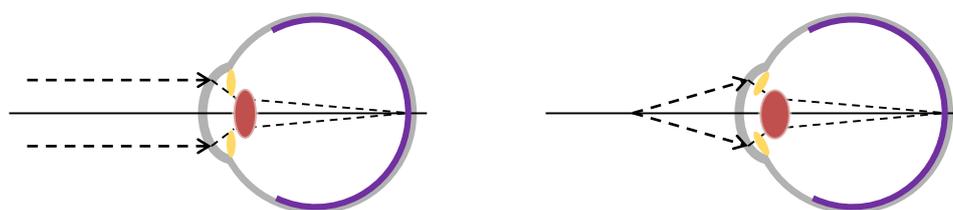


Figura 4. Izquierda: la luz proviene de un objeto lejano. Derecha: la luz proviene de un objeto cercano.

2.1.2. Retina

Una de las partes más importantes del ojo, y además en la que se centra el desarrollo de este proyecto, es la retina. Se trata de un tejido sensible a la luz situado en el interior del ojo, más concretamente en la parte posterior del globo ocular y que se extiende hasta casi el músculo ciliar. Tiene una estructura compleja, tanto anatómica (formada por capas) como funcionalmente, además podría

definirse como una prolongación del sistema nervioso central y donde comienza el proceso de análisis de la información que llega al ojo a través de la luz. Está formada por células fotorreceptoras sensibles a la luz de dos tipos: bastones y conos, que forman dos sistemas que entran en funcionamiento a diferentes niveles de luminancia. Los bastones son muy sensibles, permiten al ser humano ver en condiciones de baja luminosidad y únicamente proporcionan información en escala de grises (blanco y negro), aunque es un tipo de visión muy rápida. En cambio, los conos dan la información de color a la imagen, no son tan sensibles y por tanto se necesitan condiciones de luminosidad elevada.

Algunas de las partes más importantes de la retina situadas a lo largo del globo ocular son la mácula lútea, fóvea, la papila óptica o disco óptico. En primer lugar, la mácula lútea se distingue por tener un color distinto y además encontrarse en la zona central de la retina donde hay mayor concentración de conos en comparación con la retina periférica. En segundo lugar y en el interior de la zona de la mácula se encuentra la fóvea, que es la zona que da la visión en color y con mayor resolución. Fisiológicamente se trata de una pequeña depresión de la retina, que se puede ver en la parte contraria al cristalino y donde los vasos sanguíneos rodean la misma por arriba y por abajo, pero no hay presencia de ellos, existiendo únicamente pequeños capilares. En segundo lugar, la papila o disco óptico es el punto donde el nervio óptico entra en el globo ocular, es decir, donde se junta el ojo propiamente dicho con el nervio óptico. Es un disco de un color más claro comparado con la retina que se denomina también punto ciego del campo visual, ya que en él no hay ni conos ni bastones, por tanto constituye un punto en el que no se puede recibir información del mundo exterior.

En cuanto a las imágenes típicas empleadas en el ámbito médico de observación de la retina, se encuentran: la imagen de fondo de ojo y la imagen OCT, entre otras.

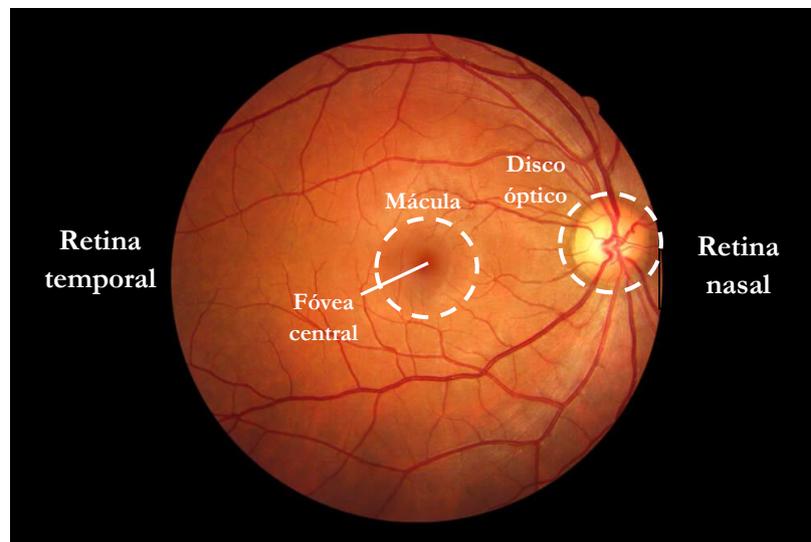


Figura 5. Fondo de ojo humano derecho.

En la imagen de fondo de ojo se observa la zona interior y posterior de la retina humana a través de la pupila, gracias a ella el oftalmólogo puede observar el área que se ve en la parte central correspondiente a la fóvea, que a su vez está rodeada por la mácula, y la zona más clara de la derecha, que es el disco óptico o papila. Además también se puede observar los vasos sanguíneos que se distribuyen a lo largo de toda la retina, en menor medida en la mácula y fóvea. El método más común de observación del fondo de ojo es la oftalmoscopia directa, a pesar de no ser la única, ya que también existe la oftalmoscopia indirecta, la retinografía y la biomicroscopia. La retinografía también resulta de

gran importancia, ya que es la técnica que permite almacenar las imágenes de la retina obtenidas mediante equipos electrónicos diseñados para este propósito. Para este tipo de pruebas es necesario la administración al paciente de unas gotas oculares que permiten la dilatación de la pupila.

Además, es destacable comentar la nomenclatura médica empleada en oftalmología y óptica. El ojo puede dividirse principalmente en cuatro cuadrantes denominados: Nasal, Superior, Temporal e Inferior, tal y como se puede observar en la Figura 6. Es importante conocer esto, ya que es la manera más empleada de nombrarlos en todos los resultados médicos.

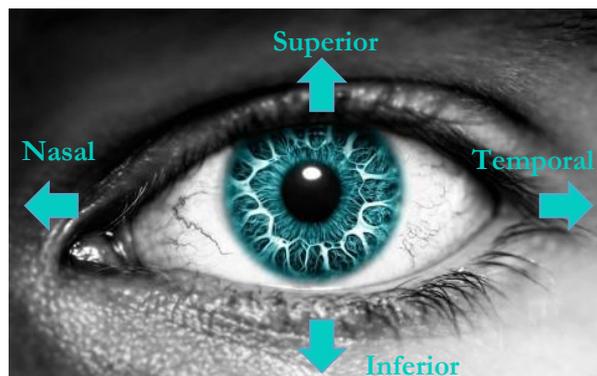


Figura 6. Parte Superior, Nasal, Temporal e Inferior.

A continuación se pasa a describir de forma básica en qué consiste la imagen de Tomografía por Coherencia Óptica (OCT) de la retina y más adelante se desarrollará la manera de obtenerla y procesarla en mayor detalle. En esta imagen ya no se observa el conjunto de la parte posterior del ojo como en la imagen de fondo de ojo, si no que se observa en profundidad la composición por capas de la retina. Como un ejemplo de este tipo de imagen y en la cual se observa perfectamente su composición, se puede observar en la Figura 8. Esta imagen ha sido obtenida de un estudio de una Asociación Oftalmológica Americana [13] cuyo propósito fue desarrollar un consenso sobre la nomenclatura de las capas de la retina que se encuentran visibles en imágenes obtenidas mediante *Spectral-Domain Optical Coherence* (SD-OCT) de un ojo normal. Este estudio fue realizado, por supuesto, por diferentes expertos en oftalmología.

Al no tratarse este proyecto de un estudio médico propiamente dicho, no se va a explicar en detalle qué tipo de estructura, tejidos o células hay en cada capa, sino que se va a enumerar las capas más relevantes observadas en imágenes OCT, así como observar qué características tiene cada una de ellas, desde el punto de vista de señal y tratamiento de la imagen. Cada capa, por tanto, en una imagen OCT podría definirse como una estructura con un tipo de reflectividad específica, lo que significa que en la imagen va a corresponderse con una zona en la que el valor de intensidad se mantiene aproximadamente constante.

Con el fin de esclarecer y visualizar mejor qué es esta imagen OCT se puede observar la Figura 7. En ella se ve tanto la imagen de fondo de ojo, de un ojo sano, como un fragmento de una imagen OCT en falso color, correspondiente a una zona concreta del mismo ojo. En este fragmento de imagen, una capa con mayor reflectividad, y por tanto mayor intensidad en la imagen, se representa mediante un color cálido, en cambio a menor reflectividad e intensidad en la imagen se emplea un color más frío. Así pues, resumiendo, podría decirse que la imagen OCT se corresponde a una imagen de una zona específica de la retina en profundidad.

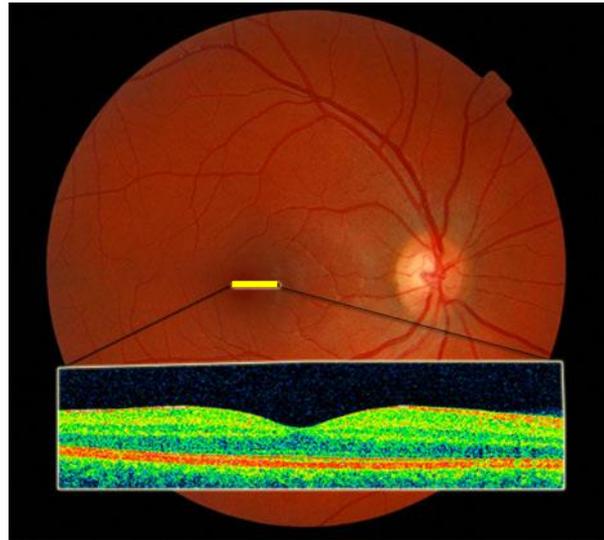


Figura 7. Fondo de ojo y OCT macular.

Por tanto, la Figura 7 en su conjunto representa la imagen OCT y el fondo del ojo del que ha sido tomada, es decir la composición de la retina en profundidad de la zona marcada. Esta zona se corresponde con la mácula, y únicamente se ha obtenido la información del barrido lineal horizontal que se observa marcado en amarillo en la figura.

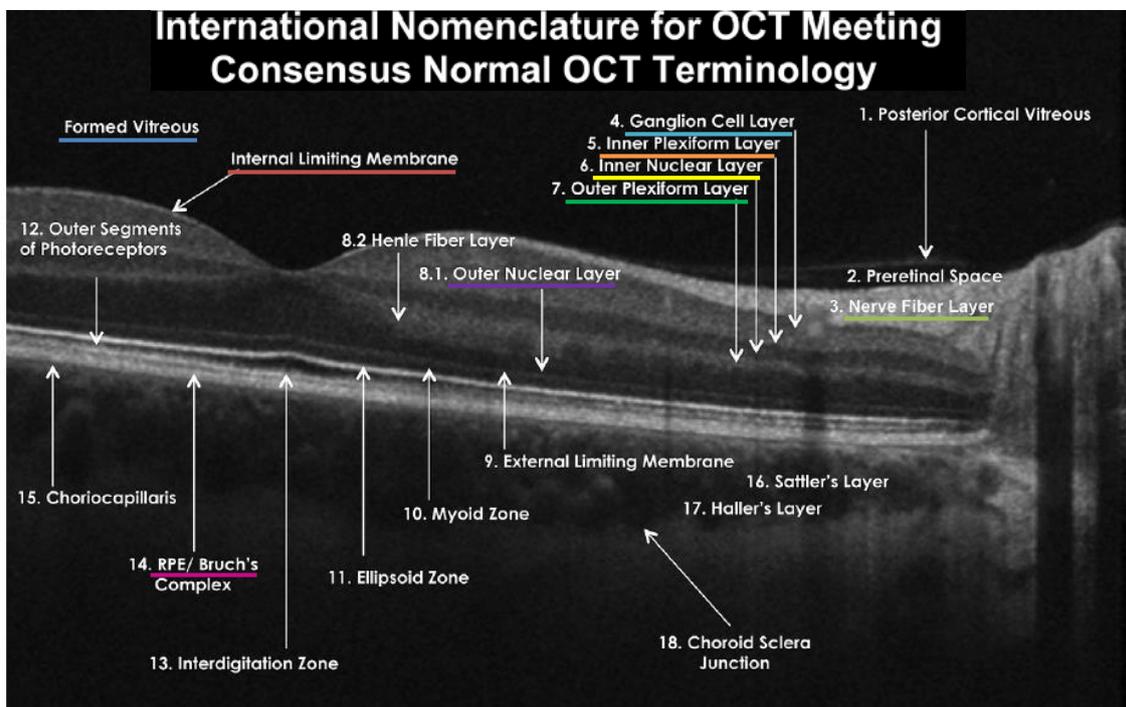


Figura 8. Capas de la retina.

Una vez ha sido explicado brevemente en qué consiste una imagen OCT, se pasa a explicar la estructura de capas mediante el apoyo de la Figura 8, la cual, por supuesto, ha sido extraída con el mismo procedimiento. En lo que concierne a las capas de la retina observadas generalmente en una

imagen OCT, las más relevantes han sido enumeradas en orden descendente desde la parte superior de la imagen:

- Humor vítreo (*formed vitreous*). No se trata de una capa, pero es importante conocerlo. Como se puede observar en la imagen es poco reflectivo (con valor similar a negro). Se trata del líquido acuoso que se encuentra en el interior del globo ocular, éste es el que ejerce una presión sobre la retina cuando hay hipertensión y puede dañar sus células fotorreceptoras (glaucoma).
- ILM (*Internal Limiting Membrane*). Es la primera zona brillante después del humor vítreo.
- RNFL (*Retinal Nerve Fiber Layer*). Capa hiperreflectiva. Es la capa que más interesa para el desarrollo de este proyecto, porque como ya se ha explicado es la capa en la que se produce un adelgazamiento a lo largo del tiempo y por tanto sirve para diagnosticar el glaucoma de forma temprana. La parte superior queda delimitada por la ILM, que tiene una mayor reflectividad que el humor vítreo, y la inferior por la GCL. Además la capa RNFL suele ser la capa más brillante después de la RPE, y se pueden distinguir porque siempre la RNFL ocupa una posición superior a la RPE.
- GCL (*Ganglion Cell Layer*). Capa hiporefectiva. En caso de querer segmentarla en trabajos futuros, podría partirse de la segmentación de la RNFL ya que su límite inferior corresponde al límite superior de la GCL.

El conjunto de las siguientes cuatro capas, también puede ser segmentado, pero esta parte resulta un poco más complejo, ya que en imágenes con peor calidad o resolución, los límites entre ellas no se pueden observar con tan buena calidad como en esta imagen de ejemplo.

- IPL (*Inner Plexiform Layer*). Capa hiperreflectiva.
- INL (*Inner Nuclear Layer*). Capa hiporefectiva
- OPL (*Outer Plexiform Layer*). Capa hiperreflectiva.
- ONL (*Outer Nuclear Layer*). Capa hiporefectiva.
- RPE (*Retinal Pigment Epithelium*). Capa hiperreflectiva. Es la capa más brillante.

Como ya se ha dicho, en la imagen anterior resulta fácil diferenciar las capas, ya que tiene una calidad y resolución buenas, y además se trata de un ojo perfectamente sano. En cambio si la imagen no es tan buena debido a baja resolución, algún tipo de movimiento del paciente al tomar la imagen o presencia de vasos sanguíneos, o se trata de un ojo enfermo esta discriminación resulta mucho más difícil. En la Figura 9 se puede observar un ejemplo un de ojo enfermo, y se puede apreciar como aquí no resulta tan sencilla la diferenciación:

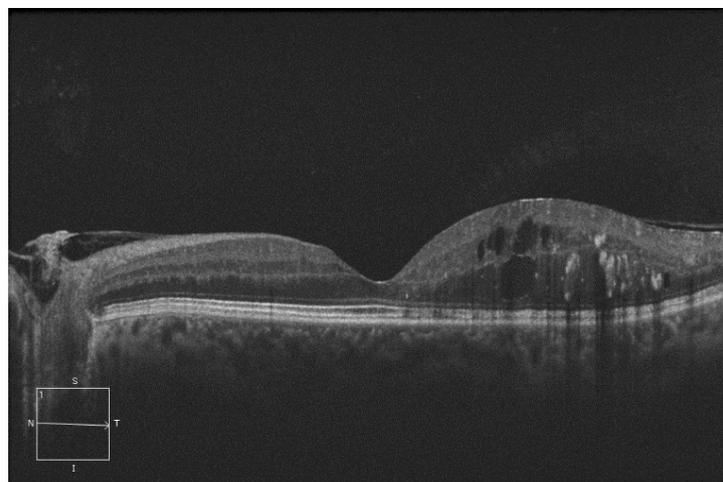


Figura 9. OCT de un paciente con edema macular diabético.

2.2. Glaucoma

Se trata de una enfermedad del ojo que produce una pérdida gradual de visión, caracterizada por la pérdida progresiva de células ganglionales de la retina y el daño del nervio óptico. Por lo general no presenta síntomas y puede resultar en la pérdida de la visión de manera repentina. Sin el tratamiento apropiado, el glaucoma podría llevar a la ceguera. Por tanto, es una enfermedad que se debe tratar lo antes posible y así, mediante el tratamiento adecuado, poder preservar la vista. Resulta de vital importancia contar con métodos de diagnóstico eficientes para poder detectar la enfermedad de forma temprana en alguno de los exámenes oftalmológicos periódicos que se deben hacer los pacientes.

Esta enfermedad se da generalmente en personas mayores de 40 años, aproximadamente entre un 1% y un 2% de ellos. Es una de las principales causas de ceguera irreversible en el mundo. Normalmente, el glaucoma se relaciona con la llamada tensión ocular, pero no todos los pacientes que tienen glaucoma tienen una tensión ocular elevada.

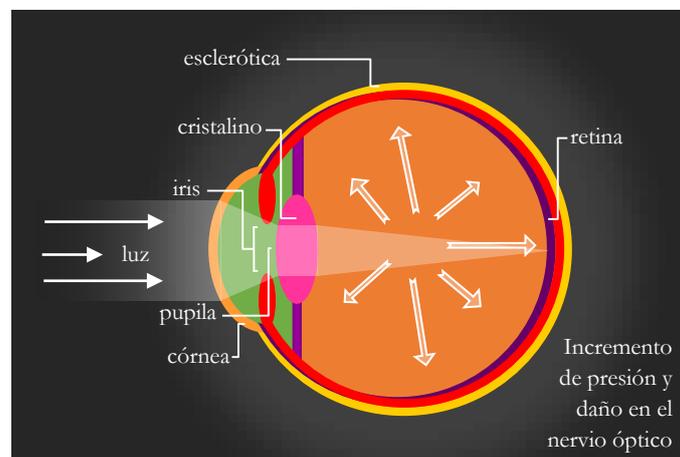


Figura 10. Ejemplo de ojo con tensión ocular.

El glaucoma suele desarrollarse de la forma que se expone a continuación. La parte frontal del ojo contiene un líquido claro llamado humor acuoso (zona coloreada de verde en la Figura 10). Este líquido se produce en la cámara posterior del ojo, y baña y nutre la córnea y la lente. El humor acuoso fluye desde la cámara posterior y continuamente drena por unos conductos entre el iris y la córnea. El flujo adecuado del humor acuoso mantiene la presión dentro del ojo normalmente balanceada. Cualquier factor que retarde o bloquee el flujo de este líquido provocará acumulación de presión en el ojo. Con la tensión de esta presión, las fibras del nervio óptico se dañan y con el tiempo mueren, lo que puede producir la pérdida de visión permanente.

Principalmente existen dos tipos de glaucoma: glaucoma de ángulo abierto y glaucoma de ángulo cerrado. El glaucoma de ángulo abierto se da por un aumento de presión progresivo y se produce lentamente con el tiempo. La persona que padece esta enfermedad no aprecia este aumento de presión lenta, pero poco a poco esta presión va ejerciendo fuerza sobre el nervio óptico y puede ir produciendo puntos ciegos en la visión. Además se trata de una enfermedad hereditaria. En cambio, el glaucoma de ángulo cerrado es totalmente diferente, ya que el ojo no presenta un aumento de su presión progresivo, sino que ocurre de manera repentina y sin previo aviso, lo que resulta de un peligro elevado, ya que puede llevar a la ceguera repentina si no se actúa de forma rápida. Este último se produce, porque el

líquido, tal y como se ha explicado anteriormente se bloquea y no puede salir del ojo. En ambas variantes de enfermedades el factor común es el daño del nervio óptico.

2.2.1. Diagnóstico

Los médicos se encuentran con diferentes problemas a la hora de diagnosticar esta enfermedad ya que, como ya se ha comentado anteriormente, no tiene una relación directa con la tensión. Hay casos en los que los pacientes tienen la presión alta y no implica glaucoma, en cambio pacientes en los que la tensión es normal, tienen el disco dañado y padecen glaucoma. Adicionalmente, una vez detectada la enfermedad resulta complicado realizar un seguimiento de la misma, debido a que el empeoramiento de cualquiera de los diversos síntomas o controles no necesariamente implica una progresión.

Para el diagnóstico y seguimiento se ha venido empleando tradicionalmente tres parámetros: la presión intraocular, el campo visual y el nervio óptico [19]. Ningún parámetro de los tres resulta perfectamente eficaz, aunque todos son útiles en cierta manera. Por ejemplo, el campo visual únicamente es útil en etapas avanzadas, cuando han quedado dañadas la mitad de las fibras nerviosas. El examen del nervio óptico es el mejor método para el diagnóstico precoz, aunque es demasiado subjetivo: demasiadas variaciones cuando el médico debe comparar imágenes directamente, e incluso si debe compararlo con los resultados obtenidos por otro médico. Finalmente el nervio óptico es el más eficiente de los tres parámetros aunque también el más complejo, por eso es tan importante disponer de métodos que realmente permitan una evaluación exacta del mismo. Se sabe que los cambios en el nervio, en la capa de fibras (RNFL), ocurren antes de que se altere el campo visual, así pues se necesita de una técnica que permita observar las alteraciones iniciales en la misma.

De esta manera, poco a poco en el ámbito de la medicina, y concretamente de la oftalmología y la óptica, se van introduciendo las nuevas tecnologías, ya que existe la necesidad de contar con métodos que den información con mayor precisión. En el caso del diagnóstico de glaucoma el uso de la tecnología OCT ha empezado a ser una práctica común, ya que proporciona gran resolución objetiva y cuantitativa en las medidas de capas de la retina afectadas por la enfermedad, células ganglionales y nervio óptico.

La OCT tiene diversas ventajas sobre las típicas pruebas que se realizaban con anterioridad a esta, es una prueba no invasiva que no es molesta para el paciente, no requiere contacto con el ojo, es rápida y no tiene efectos secundarios. Anteriormente era impensable realizar medidas de este tipo y todas las medidas necesitaban de contacto con el ojo, como por ejemplo la AFG (Angiografía Fluorescénica), que necesita de la inyección de un colorante intravenoso (AFG sigue siendo necesaria en algunas ocasiones). Por tanto la tomografía por coherencia óptica ha supuesto un gran avance y ha desbancado a otras muchas pruebas que se realizaban para diagnóstico de las diferentes patologías de la retina.

En conclusión, mediante equipos de OCT, cuya tecnología se explica en el siguiente apartado, se obtiene información suficiente para diagnosticar esta enfermedad. Esta tecnología es empleada para diagnosticar gran cantidad de patologías, en la mayoría de ellas se emplea la información obtenida centrando el equipo en la mácula ya que es la zona que suele quedar afectada por estas enfermedades. En cambio, en el caso del glaucoma, como ya se ha comentado, uno de los síntomas más tempranos es el adelgazamiento de la capa RNFL y esto se observa únicamente en la zona del disco óptico o papila, por tanto es ahí donde se toman las imágenes OCT. El médico, además de la imagen o imágenes en sí, suele contar con un informe final que genera el equipo en el que se observa diferentes tipos de medidas y resultados sobre la capa RNFL, aunque el factor común de los mismos se basa en la segmentación de esa capa. Una vez se tiene la capa segmentada, puede realizarse medidas de grosor y

compararlo con las medidas que se encuentran en una base de datos y de esta manera ser capaz de discriminar ojos normales de ojos glaucomatosos.

2.3. Tecnología OCT

OCT (*Optical Coherence Tomography*), acrónimo de las siglas inglesas para la Tomografía de Coherencia Óptica, se ha convertido en una prueba médica de gran importancia debido a la variedad de información que proporciona, su elevada resolución, así como los datos 3D complejos obtenidos. Esta prueba se realiza mediante un dispositivo, que recibe el mismo nombre (OCT), y emplea un *beam* o haz de luz infrarroja de baja coherencia hacia la retina, que mediante el principio básico de interferometría de baja coherencia (*low-coherence interferometry*) obtiene la información necesaria de forma no invasiva, es decir, no requiere contacto directo con el tejido.

2.3.1. Introducción

Esta tecnología se usa para conocer la composición histológica de la retina, es decir las capas de diferente tejido de las cuales está compuesta. Como ya se ha explicado, cada tipo de tejido tiene unas características, entre ellas un coeficiente de reflexión del cual se obtiene la información más importante para formar la imagen. En este apartado de introducción, se va a exponer de forma resumida y global el proceso por el cual el equipo obtiene la información y genera la imagen.

Por tanto, el objetivo actualmente es medir de qué distancias en profundidad proceden las reflexiones al enviar luz infrarroja a la retina. Puesto que no es posible medir directamente la distancia al lugar donde se ha producido la reflexión, ya que está inaccesible (interior del ojo) y hay varias capas semitransparentes con varias reflexiones, se recurre a esta tecnología. No mide directamente la reflexión de la manera clásica que se podría pensar en un primer momento, mediante el retardo que genera la reflexión, sino que lo hace de manera indirecta. La reflexión no puede ser medida directamente debido a la gran velocidad de propagación de la luz. Realiza la medida mediante la interferencia empleando un interferómetro.

Para introducir el concepto de interferometría, se va a explicar en primer lugar el interferómetro de Michelson. Este interferómetro está formado principalmente por:

- Una fuente de luz.
- Un espejo semirreflector (*beam splitter*).
- Un brazo de referencia (*reference arm*), con un espejo móvil.
- Un brazo de muestra (*sample arm*), con un espejo fijo. Para el cual se quiere medir la distancia a la que se encuentra de la fuente.
- Un detector.

Como se observa en el esquema de este interferómetro, en la Figura 11, la luz proveniente de una fuente es dividida por un espejo semirreflector. Parte de ella, la mitad (como en el ejemplo), es dirigida hacia el brazo de la muestra mientras que la otra mitad es dirigida hacia el brazo de referencia. La luz reflejada, tanto por el espejo de referencia como por la muestra, es recombinada en el espejo semirreflector de nuevo. Parte de la luz es entonces dirigida directamente al detector.

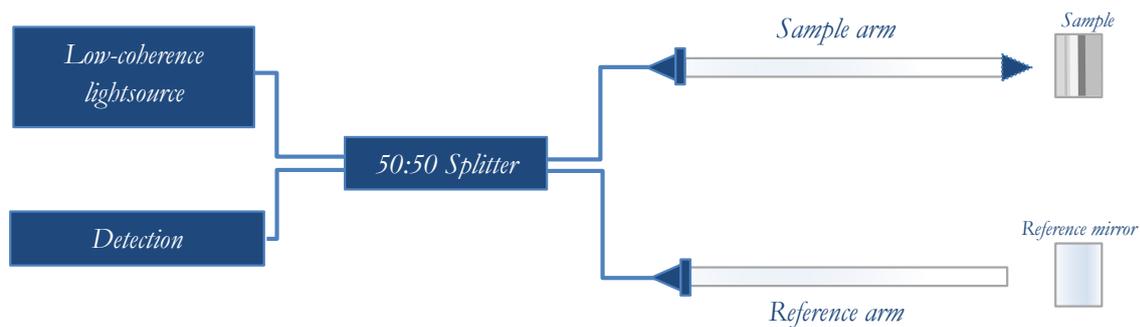


Figura 11. Esquema básico del interferómetro de Michelson.

El funcionamiento básico consiste en la suma de los haces reflejados por los dos espejos (estático y móvil), la cual se hace máxima cuando las distancias de estos espejos desde el emisor son iguales o su diferencia es igual a un múltiplo de la longitud de onda.

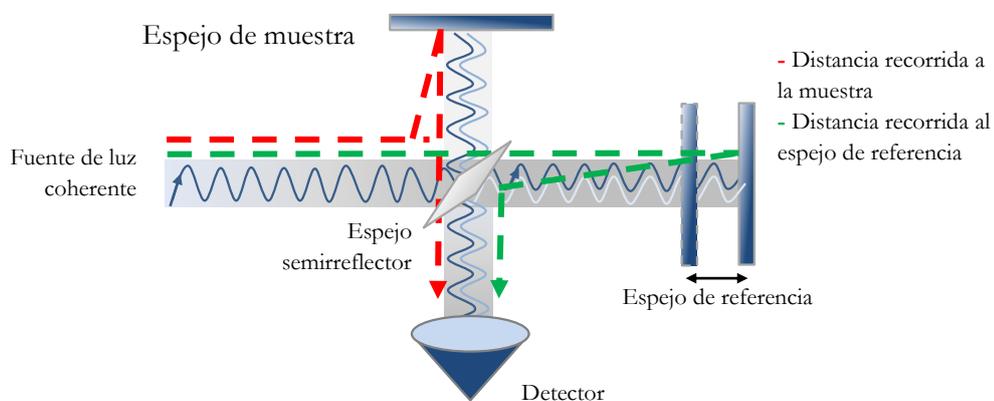


Figura 12. Funcionamiento básico del interferómetro de Michelson.

Teniendo en cuenta que el espejo estacionario es donde realmente se situaría la muestra (en este caso el ojo a estudiar) y el espejo *moving mirror* es el espejo de referencia que se mueve, puede conocerse la distancia a calcular mediante la suma de los rayos. Cuando el recorrido verde sea igual al recorrido rojo, las fases de las dos ondas serán iguales y por tanto la amplitud será máxima, así se puede conocer entonces la distancia de la muestra. La distancia a la que se encuentran ambos espejos en ese momento es la misma (han realizado exactamente el mismo recorrido), y por tanto, conociendo la distancia a la que se encuentra el espejo de referencia, se puede conocer la distancia a la muestra.

El caso real no resulta tan sencillo. La retina del ojo humano está formada por capas semitransparentes, como se ha explicado en los primeros capítulos de este proyecto, cada una de las cuales produce una reflexión de mayor o menor amplitud y a una determinada distancia, deja pasar el resto de luz y ésta sigue penetrando en las sucesivas capas, a la vez que cada una de ellas refleja parte de la luz que le ha llegado. Por tanto, el objetivo real sería conocer a qué profundidades se producen las reflexiones de las capas.

En la Figura 13 se puede ver un haz de luz dirigido al ojo. Parte de la luz es reflejada en la primera capa y parte es transmitida a la segunda, en la segunda capa ocurre lo mismo y así sucesivamente. Entonces, el interés de esto es conocer dónde han sido producidas estas tres reflexiones, es decir la profundidad a la que se ha producido la reflexión dentro del ojo, de la retina concretamente.

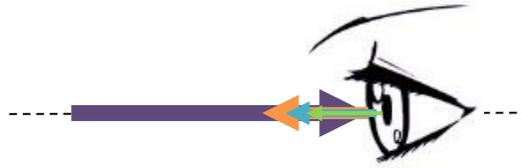


Figura 13. Rayo de luz dirigido al ojo y reflexiones producidas en las capas de la retina, en un único punto (*A-scan*).

Siguiendo con el proceso, nótese que se tiene, de un único punto del ojo (punto amarillo) como se ve en la Figura 14, la información de las reflexiones que se han ido produciendo en profundidad (a lo largo de la línea negra punteada, Figura 13) dentro del ojo.



Figura 14. Punto del ojo en el que se miden las reflexiones de las capas de la retina (*A-scan*).

Como se ve en la Figura 15, se toman tres reflexiones de ejemplo (producidas con unas determinadas amplitudes y distancias características). Estas tres reflexiones pueden ser representadas en un gráfico 2D, teniendo en el eje de abscisas la distancia en profundidad a la que ha sido producida la reflexión y en el eje de ordenadas la amplitud con la que llega la misma al receptor. Así pues queda definido el concepto de *A-scan*:

- *A-scan*: la luz reflejada describe variaciones en la reflexión óptica a lo largo de la profundidad de la retina en un punto.
 - Pixels brillantes: tonos cálidos cuando se representa en falso color, correspondiente a una gran reflectividad.
 - Pixels oscuros: tonos fríos cuando se representa en falso color, correspondientes a una reflectividad baja.

Esta información llamada *A-scan*, como ya se ha comentado, se puede representar tanto en un gráfico 2D como en una única línea que represente la profundidad en un punto del ojo. De tal forma que si se tradujera la amplitud en una escala de grises, la amplitud máxima correspondería al blanco y la mínima al negro, dando como resultado una única línea en la cual a cada distancia se representa la amplitud de la reflexión mediante niveles de grises. Esto también podría representarse en una escala de falso color que, de hecho, es muy común en este tipo de datos oftalmológicos proporcionados por el dispositivo OCT.

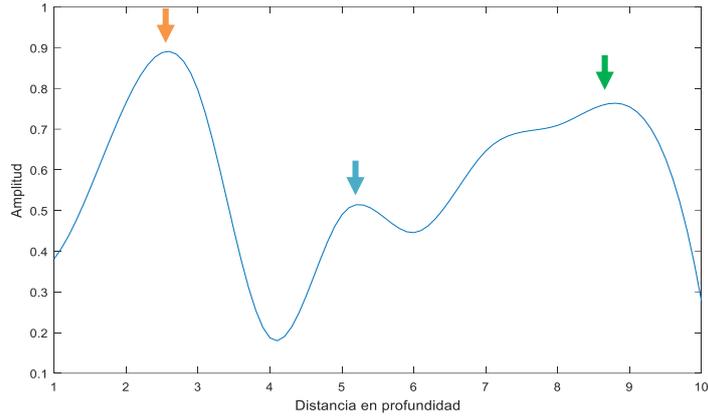


Figura 15. Ejemplo de tres reflexiones (A-scan).

Como se puede observar en la figura anterior, se trata de un gráfico en dos dimensiones donde se ha representado las tres supuestas reflexiones del anterior ejemplo (Figura 13), las cuales pueden observarse también en la Figura 16 representadas mediante una línea, tal y como se ha explicado. Las reflexiones han sido marcadas con tres flechas de colores, con tal de poder relacionar mejor las figuras. Como se puede observar cuando la amplitud es elevada, el color en la representación en forma de línea es más claro o cálido, y cuando la amplitud disminuye se oscurece o se hace más frío, según si la representación es en escala de grises o en falso color, respectivamente.



Figura 16. Ejemplo de tres reflexiones (A-scan, mapeado en valores de amplitud entre 0 y 1)

De tal manera que si haciendo el proceso anterior se obtiene la información de la reflexiones en profundidad en un punto y se representa en una línea en escala de grises, si se repite este proceso para diferentes puntos se pueden concatenar las líneas en forma de columna y formar una imagen en escala de grises (imagen OCT o B-scan).

- B-scan o tomografía: la unión de varios A-scan linealmente formando una imagen *cross-sectional*. Un conjunto de muchos B-scan se puede emplear para generar información 3D de un volumen.

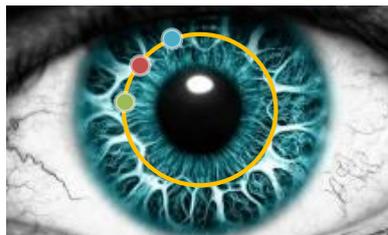


Figura 17. Trayectoria circular para la generación del B-scan.

En la Figura 17, se puede ver una trayectoria circular (línea amarilla), la cual corresponde al escaneo que realiza la OCT. Es decir, el equipo realiza el proceso descrito anteriormente obteniendo el *A-scan* para diferentes puntos de esa trayectoria circular.

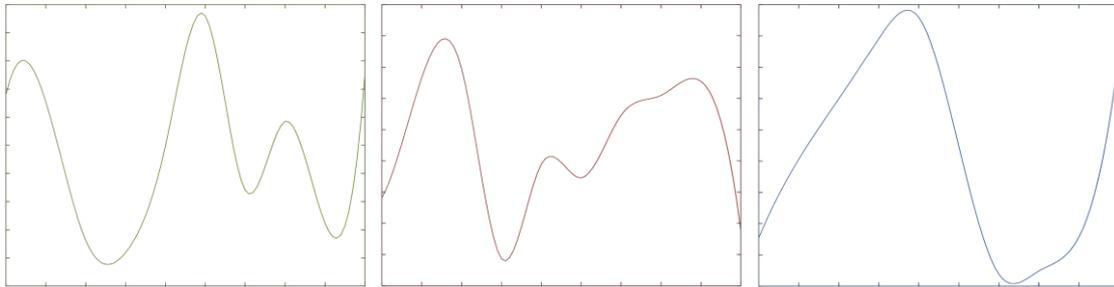


Figura 18. *A-scan* en tres puntos diferentes de la trayectoria circular. De izquierda a derecha, puntos verde, rojo y azul.

Así pues uniendo esta información, se obtiene la imagen en la que se observa la composición histológica de la retina y que posteriormente se trata de segmentar. En la Figura 19, se muestra el proceso de composición del *B-scan* mediante la ‘concatenación’ de vectores correspondientes a *A-scan*.

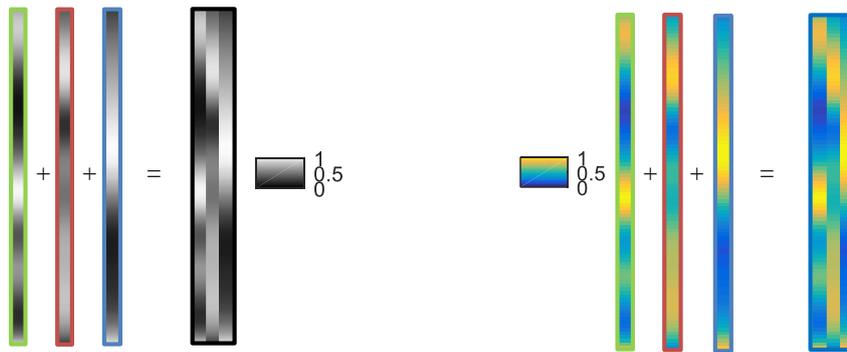


Figura 19. Proceso de generación de *B-scan* a partir de tres *A-scan*

Una de las formas más típicas de exploración del ojo para la generación del *B-scan* es la circular, pero no es la única, existen diferentes protocolos de escaneo. Como se puede observar en la Figura 20, por ejemplo para el equipo llamado *Stratus OCT* del fabricante *Carl Zeiss Meditec*, se pueden observar 19 diferentes protocolos de adquisición de información.

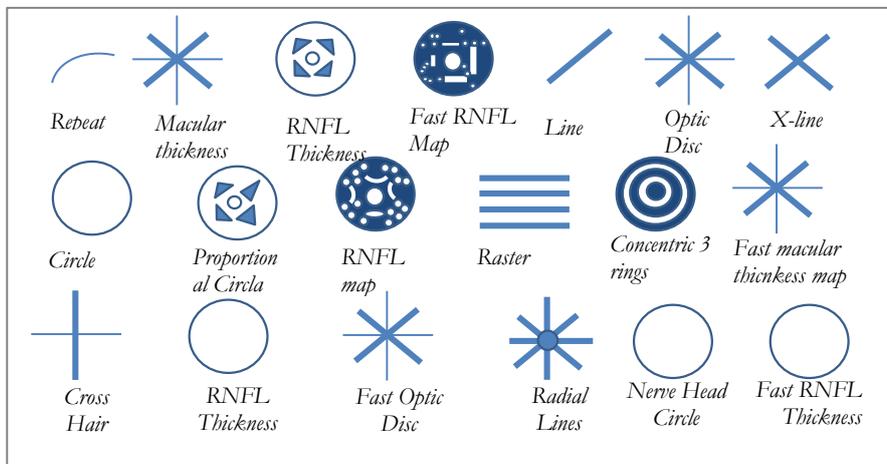


Figura 20. Protocolos de escaneo OCT del sistema *Stratus OCT* (Zeiss).

En particular a continuación se muestra un ejemplo de un *B-scan* circular. En la Figura 21 se puede observar la posición del patrón circular y su dirección correspondiente a R que se muestra en ambas figuras(a) y (b). La posición de los bordes de los cuadrantes del láser, *Scanning Laser Ophthalmoscopy* (SLO) en la imagen, se puede ver marcados con líneas verdes.

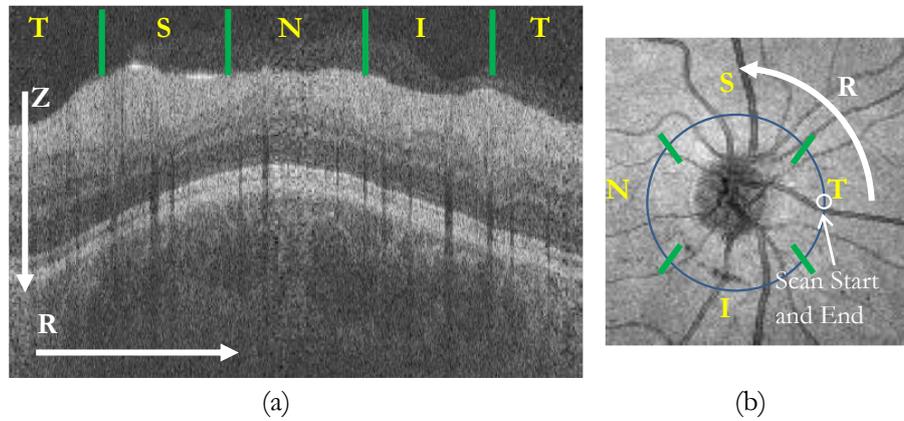


Figura 21. *B-scan* + Fondo de ojo

En conclusión se podría decir que se tiene una capa (retina) formada a su vez por capas de diferentes tejidos y el objetivo es conocer su composición o estructura. Por tanto, se tiene un problema tridimensional y se ve la necesidad de mostrarlo de forma bidimensional, con tal de poder analizarlo. Mediante el proceso explicado se consigue este objetivo, representar la información tridimensional del ojo en forma de “cortes”, un corte se refiere a un escaneo específico, por ejemplo el *circle* o *raster lines* ambos incluidos en la Figura 20.

La Figura 22, representaría el resultado obtenido mediante el escaneo denominado *raster lines*, un cubo formado por diferentes cortes o *B-scan*. De hecho, esta es la manera en la que se va a trabajar mayoritariamente a lo largo del proyecto, ya que en las bases de datos empleadas la información se presenta de esta manera.

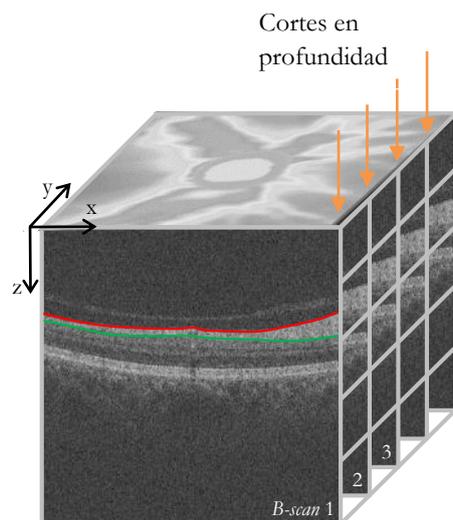


Figura 22. Cubo de imágenes OCT.

Así pues, se parte de la información en forma de cubo y se debe procesar con tal de obtener los resultados de la forma deseada. Como se observa en la Figura 22, se pasaría a segmentar

individualmente cada *B-scan* que forma el cubo. Teniendo la información de la capa deseada, RNFL en este caso, ya se podría obtener cualquier tipo de representación del informe médico, como por ejemplo, *RNFL Thickness Map*, que se explicará en posteriores capítulos.

A continuación se puede ver un ejemplo de imágenes OCT obtenidas mediante escaneo horizontal y centradas en la mácula, de la parte nasal a la temporal tanto en escala de grises como en falso color.

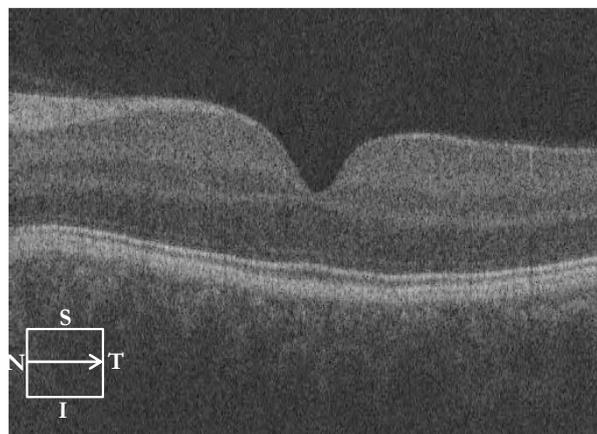


Figura 23. Imagen resultado OCT en escala de grises, obtenida mediante escaneo lineal horizontal, desde la parte nasal del ojo a la temporal.

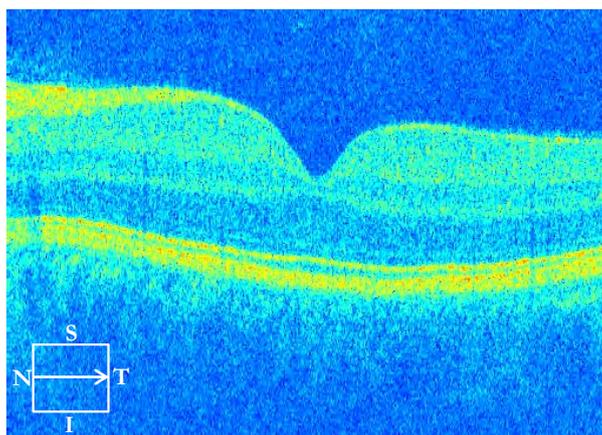


Figura 24. Imagen resultado OCT mapeada en falso color, obtenida mediante escaneo lineal horizontal, desde la parte temporal a la parte nasal del ojo.

2.3.2. Interferómetro de Michelson

A continuación se va a explicar en detalle el funcionamiento del interferómetro de Michelson, en primer lugar para el caso ideal de un único eco y a continuación para el caso de multieco que se acerca más a la situación real. En primer lugar, para la explicación detallada del interferómetro, se pasa a explicar el proceso para un único eco: primero teniendo una luz introducida en el interferómetro de una única frecuencia, es decir monocromática, en segundo lugar empleando dos ondas lumínicas monocromáticas cada una a una frecuencia diferente y finalmente, la luz introducida contendrá un rango de frecuencias continuo, el cual corresponde a la OCT. A continuación se presentan los

resultados del funcionamiento con multieco, en el cual se hará hincapié en la importancia del ancho de banda de la luz empleada en la fuente.

OCT con un único eco

En primer lugar se va a pasar a explicar cómo obtener un retardo y por tanto distancia, de un único rebote. Esto se consigue teniendo en cuenta la interferencia entre los dos haces de luz, el de muestra (espejo fijo, en el esquemático del interferómetro de Michelson) y el de referencia (espejo móvil, en el esquemático del interferómetro de Michelson), tal y como se explica a continuación.

2.3.2.1. Interferencia de ondas monocromáticas con la misma frecuencia:

Para la explicación de este fenómeno, la ecuación básica necesaria que debe emplearse es la ecuación básica de la onda propagándose en el espacio, de manera que la onda queda totalmente definida en distancia y tiempo:

$$A \sin(kz - \omega t + \phi) \quad (1)$$

Para poder entender mejor el problema, se pone como ejemplo el siguiente supuesto:

- Distancia a la muestra (z_s) son 20 cm.
- Distancia de referencia (z_r) se va a variar, en torno a la distancia que se encuentra la muestra y se le añade un diferencial ($z_s + \text{pequeño diferencial}$). Únicamente este supuesto es para ver en el ejemplo el comportamiento del sistema, variando alrededor de la distancia donde es conocido que se sitúa la muestra.
- Luz que se va a emplear en este ejemplo se encuentra centrada en la longitud de onda de 800 nm. (Luz infrarroja, ya que la luz normal del espectro visible del ser humano está en torno a 400-600 nm)

Para una distancia fija, amplitud instantánea:

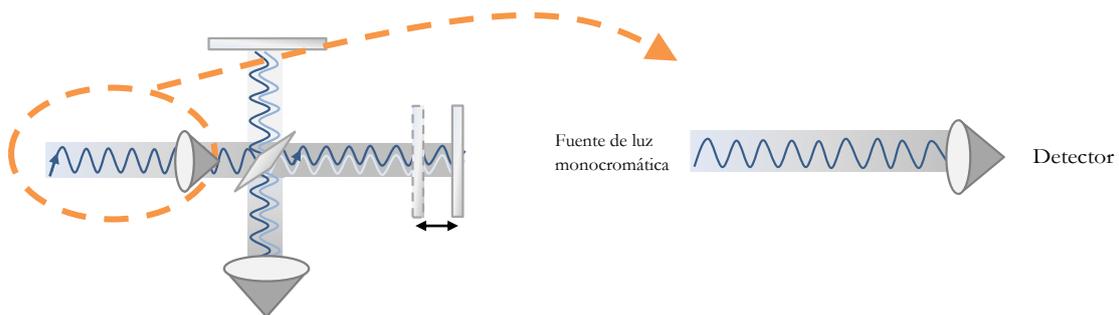


Figura 25. Detector a una distancia cualquiera de la fuente de luz monocromática.

Ahora mismo suponiendo que se mide en un punto (un punto cualquiera de una onda, tal y como se ve en la Figura 25) y a medida que avanza el tiempo, se le da valores a la variable temporal t , la señal instantánea tiene forma sinusoidal, Figura 26:

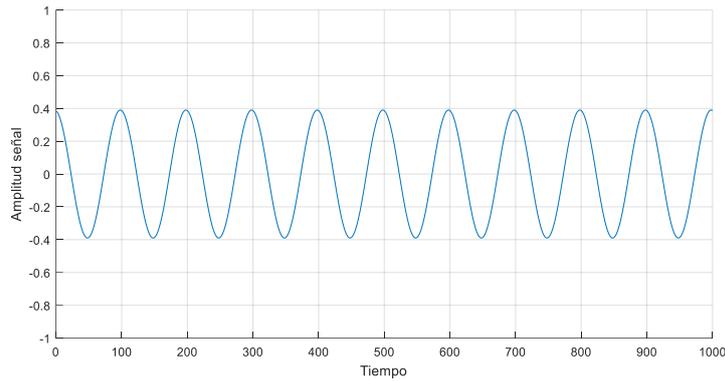


Figura 26. Señal (amplitud instantánea) en un punto cualquiera del interferómetro, forma senoidal.

Así pues, un medidor situado en un punto mide la excitación que produce en él la luz según su amplitud. De esta manera se obtiene la información de lo que sucede a lo largo del tiempo en una posición del espacio. En la Figura 28 se representa esta onda de luz extraída del medidor, teniendo en el eje de abscisas el tiempo y en el eje de ordenadas la excitación. Esta excitación del detector es la suma algebraica de las dos excitaciones que producen las dos señales, provenientes de la muestra y de la referencia, es decir, de la luz que ha seguido el camino rojo y verde, respectivamente.

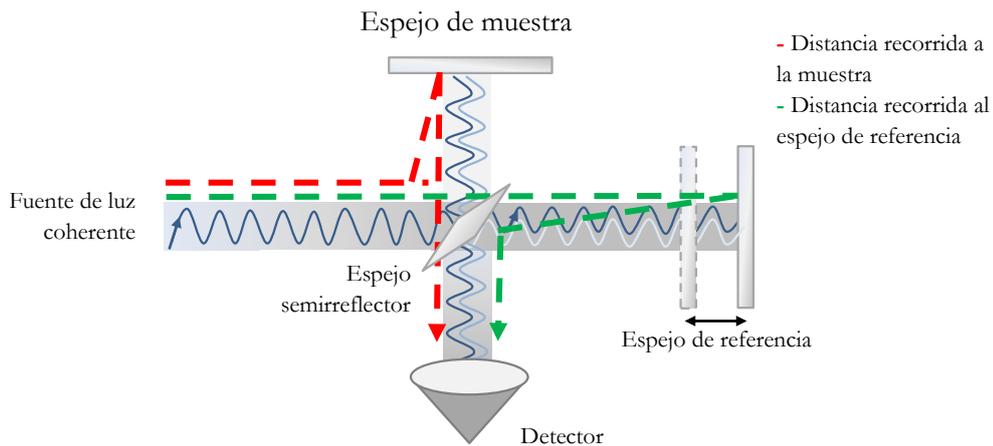


Figura 27. Detector suma algebraica de las dos ondas, muestra y referencia.

Así pues, como ya se ha dicho, en el caso que se muestra en la Figura 27, teniendo el espejo de referencia en un punto cualquiera inamovible, los resultados obtenidos se corresponden con la Figura 28. El receptor por tanto recibirá la suma algebraica de dos señales, la de muestra y referencia, las cuales serán iguales ya que ambas proceden de la misma fuente monocromática a una sola frecuencia, dos senos idénticos con una diferencia de fase. Así pues, al tratarse de estas señales, el resultado de la suma algebraica será otro seno, siendo de mayor o menor amplitud dependiendo de esta diferencia. Además en las siguientes figuras, Figura 29 y 30, se puede ver dos casos particulares y extremos de este hecho: el caso de la primera de ellas (izquierda) ambos senos son idénticos, ya que están en fase y por tanto la amplitud del seno resultante es el doble (señal que llegaría al receptor); en cambio, en la segunda de ellas (derecha), los senos se desfasan 180 grados, por tanto la señal pasa a ser completamente nula. Así pues, entre estos dos casos opuestos existen infinitud de supuestos en los que se vería cómo varía la amplitud en función del desfase.

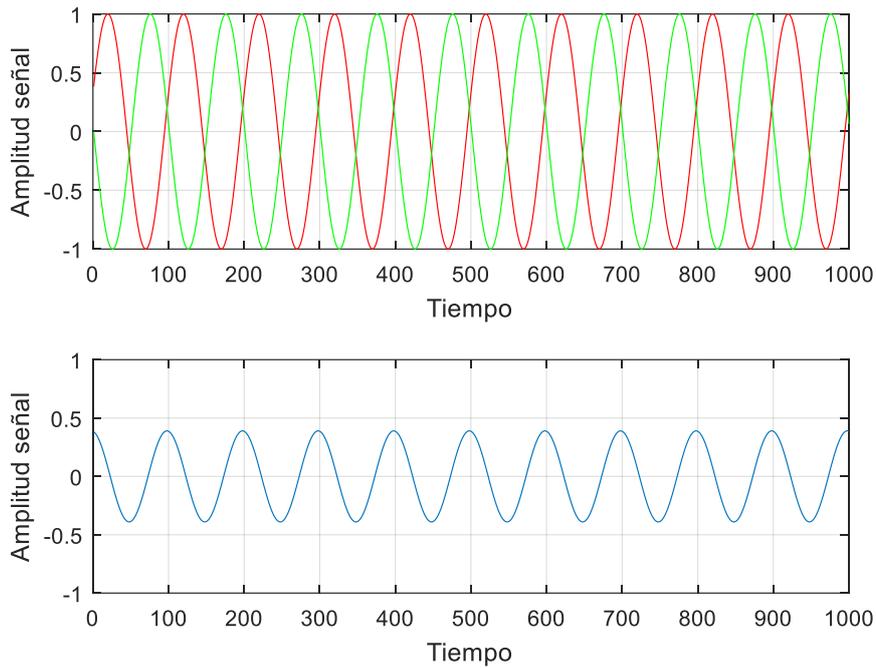


Figura 28. Suma algebraica de las señales que provienen de la muestra y de la referencia.

En cuanto a las siguientes figuras, se puede observar como, solamente con desplazar un poco el espejo de referencia, en el caso de longitud de onda de 800nm desplazando la mitad (400nm que es medio periodo), la suma resultaría nula (absoluta oscuridad). Por tanto, se puede ver con qué precisión y orden de magnitud se trabaja.

Si estuvieran en fase, el resultado sería el doble:

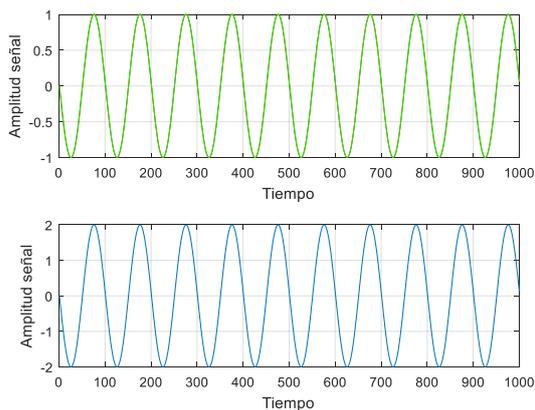


Figura 29. Senos en fase.

Si estuvieran totalmente desfasadas (180°) la suma sería nula:

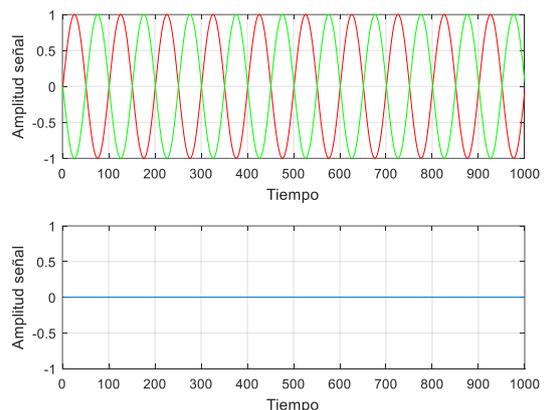


Figura 30. Senos desfasados completamente.

La variable \emptyset en la Ecuación 1 representa el momento en el que se enciende la luz, un momento aleatorio. Pero es conocido que cuando se enciende la luz para el camino rojo también se hace para el verde. De manera que esta variable aleatoria \emptyset es siempre igual para ambas, por ello no afecta.

Detector, intensidad de luz:

El detector real mide intensidad de luz, que no se corresponde con el valor instantáneo de la excitación del campo eléctrico o magnético de la luz, como se estaba viendo hasta ahora. Si no que es la media temporal al cuadrado de la amplitud instantánea.

Como se ha explicado anteriormente para cada posición del espejo, se tiene la suma algebraica de dos senos, lo que resulta en otro seno. En resumen, para cada posición se tiene una señal sinusoidal diferente, pero como se ha anticipado, el detector mide la intensidad de la luz correspondiente a la media temporal al cuadrado de la amplitud instantánea, es decir un único valor. Esto puede verse con mayor detalle en [2].

Concretamente, es posible demostrar de manera sencilla que la salida del detector (intensidad de la luz) no depende de las distancias particulares, muestra y referencia, sino sólo de la diferencia de distancias:

$$A_r \exp(i(kz_r - wt + \phi_r)) + A_s \exp(i(kz_s - wt + \phi_s)) \quad (2)$$

En este caso se tiene el mismo valor de ϕ para las dos ondas, $\phi = \phi_r = \phi_s$, porque parten de una fuente única, como ya se ha explicado. Además, la fase de la onda resultante no es relevante al ser la intensidad una media temporal.

En cambio kz es distinto por supuesto porque recorren distancias diferentes:

- kz_r en la onda que viene de la reflexión en el espejo móvil (de referencia)
- kz_s en la onda que viene de la reflexión en el espejo fijo (de muestra).

Por lo que el módulo de la amplitud queda:

$$|A| = \sqrt{A_r^2 + A_s^2 + 2 A_r A_s \cos(kz_r - kz_s)} \quad (3)$$

Como la intensidad es un medio de la amplitud al cuadrado, la intensidad es proporcional a:

$$\frac{1}{2} (A_r^2 + A_s^2 + 2 A_r A_s \cos(kz_r - kz_s)) \quad (4)$$

Si A_r y A_s son iguales porque el espejo semirreflector en este ejemplo se ha escogido para que reparta a partes iguales la luz.

$$|A| = \frac{1}{2} (1 + \cos(kz_r - kz_s)) \quad (5)$$

Esta ecuación es importante porque permite calcular la intensidad sin tener que hacer tantos cálculos numéricos. Sabiendo las amplitudes individuales y el desfase se tiene la intensidad en el detector. Nótese que es la suma de un término constante igual a 1 + un coseno.

Interferencia básica, en función de la diferencia de distancia:

Una vez se ha visto que se puede calcular fácilmente la amplitud de interferencia contando con la diferencia de distancia entre la muestra y la referencia, se pasa a obtener gráficamente el resultado del mismo supuesto. Se toma arbitrariamente una distancia a la muestra (z_s) de 20 cm y se varía la distancia de referencia (z_r) alrededor de esa distancia. Se calcula la intensidad en el detector para cada posición del espejo de referencia.

En la Figura 31 se puede ver la representación de este supuesto, teniendo en el eje de abscisas la diferencia de distancias entre z_r y z_s , el cero correspondiendo a $z_r = z_s$. El rango es de -3 a +3 micras. Los mínimos se producen cada 400nm , $\lambda/2$. Esto es lógico, ya que estos valores corresponden al momento en el que se produce un desfase de $\pi/2$ y se anula la señal con lo que la amplitud resultante es cero. En cambio, si la diferencia de distancia es múltiplo de λ están en fase y la intensidad es 2, es decir la suma de las dos amplitudes.

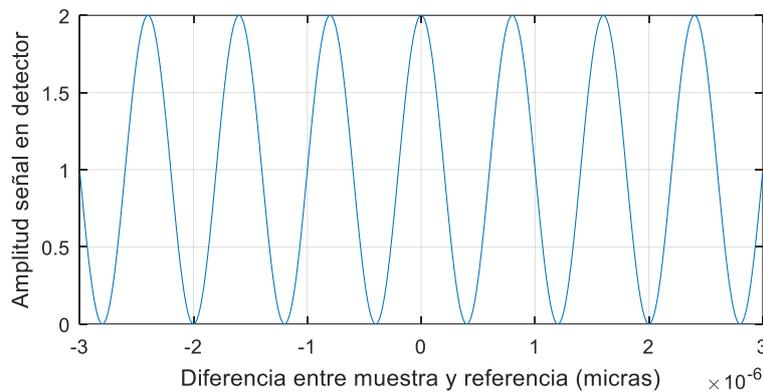


Figura 31. Resultado de la suma de las dos ondas, en función de la diferencia de distancias.

El experimento anterior resulta interesante pero no del todo útil para el caso real del dispositivo OCT, ya que se tiene el objeto de muestra a una distancia de 20 cm y el interferómetro da como resultado máximos de intensidad en todos los múltiplos de λ . Es decir, da un nivel máximo de amplitud para una distancia de referencia de 20cm, que sería el resultado correcto, pero también lo da para $20\text{ cm} \pm \lambda$, $20\text{ cm} \pm 2\lambda$, $20\text{ cm} \pm 3\lambda$, etc. Por tanto se tiene múltiples máximos y no sólo uno, como se desearía.

Así pues, se necesitaría obtener una señal que tuviera un máximo en 20 cm y cero en el resto de distancias, Figura 32. Es decir, idealmente una función delta a $z_r = 20\text{ cm}$. Ya que esto se sabe que es un resultado ideal, se trata de obtener algo lo más aproximado posible. Para esto, se pasa a aumentar el número de sinusoides en la fuente de luz, que es el experimento explicado en el siguiente apartado del proyecto.

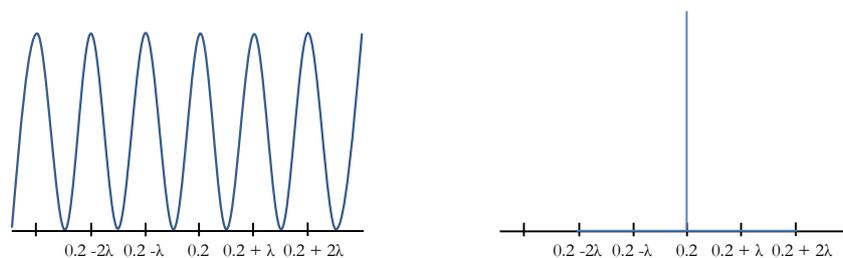


Figura 32. Izquierda: resultado de la interferencia con fuente monocromática de una única frecuencia. Derecha: resultado deseado de la interferencia.

2.3.2.2. Interferencia de ondas monocromáticas con dos frecuencias o más

En los dispositivos reales OCT, el interferómetro se emplea con una fuente de banda ancha continua. Pero previamente a la explicación del caso real, se pasa a explicar un paso intermedio para el análisis del interferómetro con dos frecuencias.

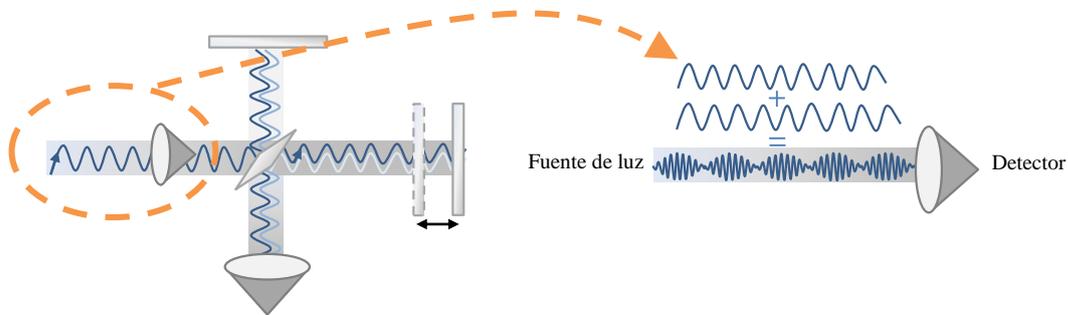


Figura 33. Detector a una distancia cualquiera de la fuente de luz con dos senos.

Como ya se ha explicado anteriormente, empleando como fuente una luz monocromática no se obtiene el resultado deseado, por tanto para tratar de dar solución a este problema se genera una señal de entrada al interferómetro con dos sinusoidales a diferente frecuencia. Como ejemplo, se puede ver la Figura 34 una señal formada por dos senoidales, una de 800nm y otra de 900nm.

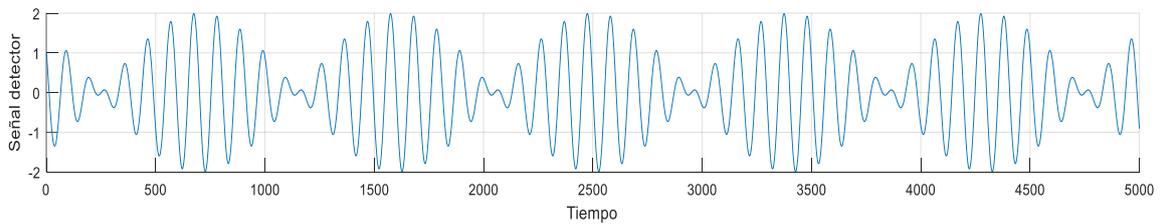


Figura 34. Fuente con luz generada a partir de dos senos a diferente frecuencia.

De esta manera, a continuación se calcula el resultado de la interferencia de las señales de referencia y de muestra que se obtendría si hubiera entre ellas una diferencia en un rango desde -20 a +20 micras.

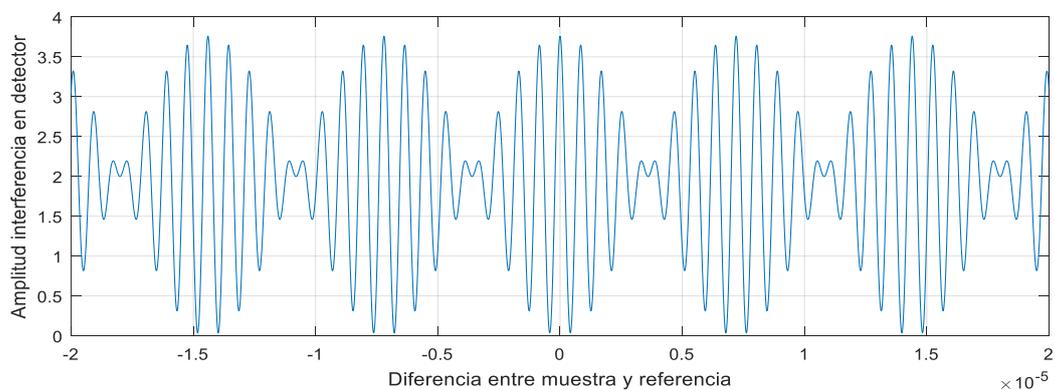


Figura 35. Resultado de la interferencia en función de la diferencia de distancias, para una luz de dos senos a diferente frecuencia.

Como se puede observar, aún continúa existiendo el problema de tener máximos de amplitud seguidos en la señal de interferencia, Figura 35, pero se puede observar una mejora ya que se han

separado considerablemente en comparación con el resultado obtenido teniendo una fuente monocromática.

En la Figura 36, se puede observar la diferencia entre emplear una luz monocromática y una luz generada con dos frecuencias. Tomando en un rango de $-1e-5$ a $1e-5$, es decir un rango de -10 a $+10$ micras, siendo el cero la posición en la que la muestra y la referencia se encuentran a la misma distancia, los máximos que se producen en la interferencia para los dos tipos de luces difieren bastante. Para una frecuencia se ve que los máximos están muy juntos (máximos marcados con puntos en color verde), en cambio, para dos frecuencias se observa una gran mejora, los máximos se encuentran a una distancia bastante mayor unos de otros (distancias entre máximos marcadas con flechas en color amarillo). Así pues, de esta manera se puede decir, que el aumento a dos frecuencias diferentes de la fuente de luz del interferómetro da el resultado que se aproxima más al deseado.

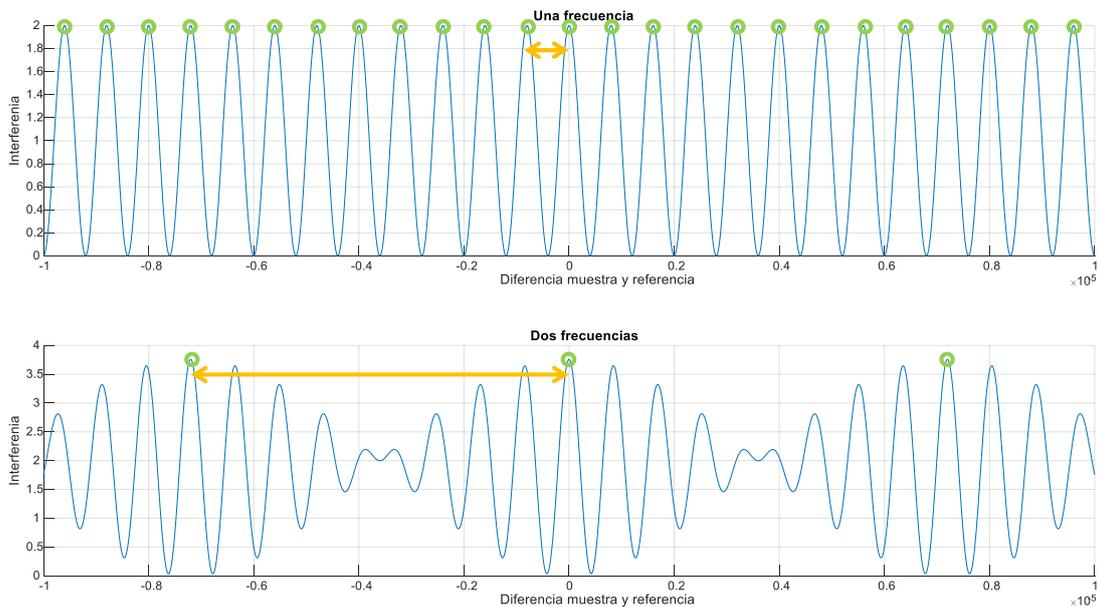


Figura 36. Comparación interferencia empleando luz generada a una frecuencia y a dos frecuencias.

A continuación, se realiza la prueba añadiendo senoidales a la luz de entrada del interferómetro de Michelson, observando como los máximos poco a poco se van separando más y más.

2.3.2.3. Interferencia con luz generada mediante un rango de frecuencias continuo:

Como se puede ver en la Figura 37, añadiendo un número elevado de senoidales a la señal, se puede obtener un resultado de interferencia mucho mejor. En esta figura se pueden ver cinco gráficas, con la amplitud de la señal de interferencia en el eje de ordenadas y la diferencia entre la posición de la muestra y la referencia en el eje de abscisas, empleando para las cuales cinco señales constituidas por un número diferente de frecuencias, de menos a más en orden descendente (1ª: 1 frecuencia, 2ª: 3 frecuencias, 3ª 5 frecuencias, etc.). Como se ha comentado, obtener una delta es imposible en la realidad, pero se puede observar cómo se obtiene una señal (5ª gráfica) con un pico en amplitud muy considerable con respecto al resto en 20cm (que es en efecto donde se encuentra la muestra, en este caso en cero porque el eje x representa la diferencia de distancias entre la muestra y la referencia). También cabe decir, que no únicamente existiría este pico, habría más pero en posiciones suficientemente alejadas, y podrían descartarse fácilmente ya que se conoce el orden de magnitud aproximado de las medidas.

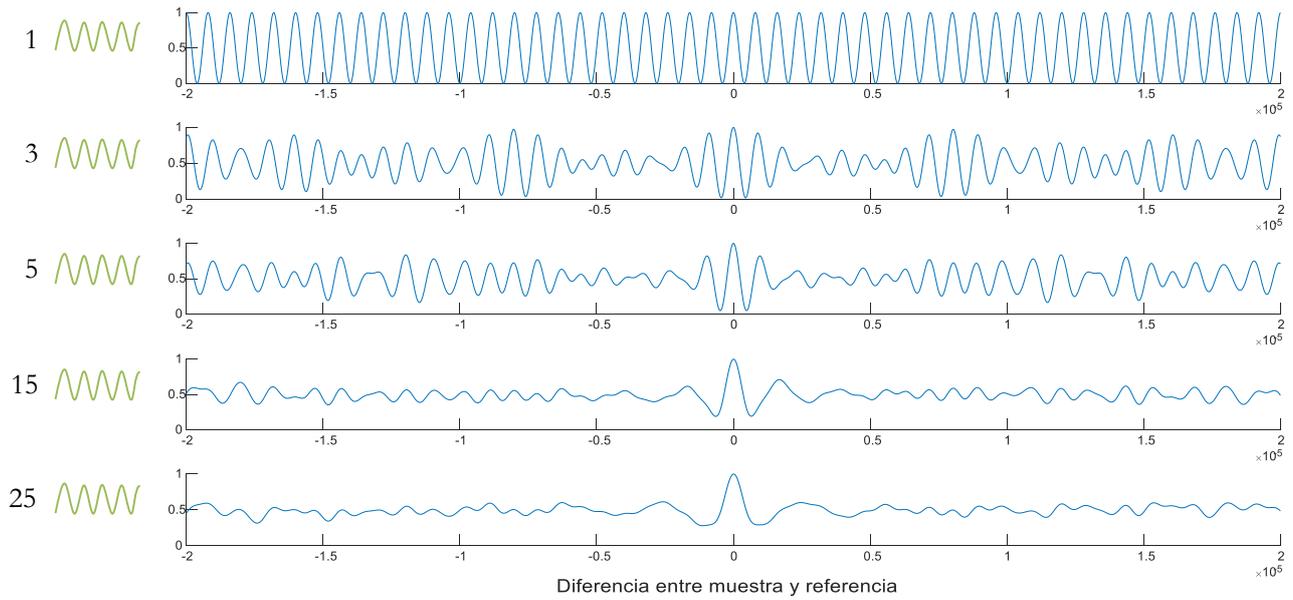


Figura 37. Interferencia en función del número de senos que formen la luz.

Por tanto se puede llegar a una conclusión: con una señal senoidal no se puede discriminar el punto en el que el espejo de referencia se encuentra en la misma posición que el espejo de muestra. En cambio, cuando la señal de entrada al interferómetro está formada por diferentes señales monocromáticas, cada una con una frecuencia diferente la respuesta, y a medida que se aumenta el número de senos añadidos, ésta se va asemejando más a la respuesta deseada de una delta.

A continuación, para la generación de la señal que representa la luz en este ejemplo de una manera más genérica y que se ajuste más a la realidad, se continúa empleando como λ central 800nm y se va tomando diferentes λ 's cada cierto incremento y dentro de un rango (definido por σ). Por tanto, tomando un conjunto de longitudes de onda correspondiente a las que se encuentran entre -2σ a $+2\sigma$ con un cierto incremento, se definen las señales senoidales que van a constituir la fuente de luz total, por tanto teniendo σ una relación directa con el ancho de banda. Además, se le ha dado una forma gaussiana y normalizado la amplitud.

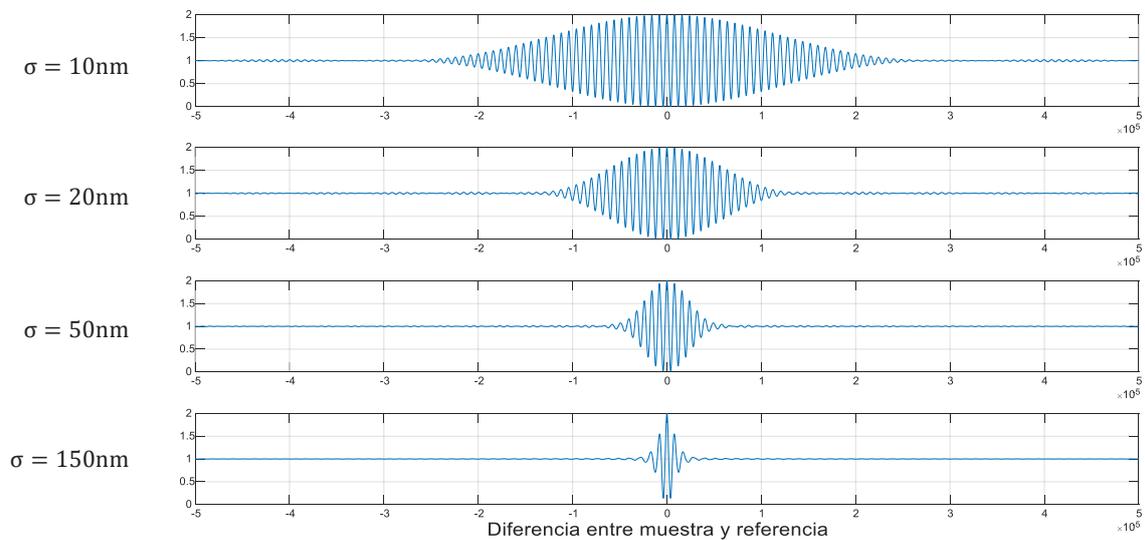


Figura 38. Ejemplo gráfico. Resolución aumenta con el ancho de banda.

En la Figura 38, se puede ver un ejemplo gráfico de cómo claramente el ancho de banda afecta a la resolución de la OCT. En la gráfica superior, teniendo la muestra en 0, se ve como entre $-50\mu\text{m}$ y $+50\mu\text{m}$ la respuesta no baja significativamente, con lo cual si se produjese un eco de otra capa semitransparente en ese rango quedaría las señales de ambos ecos quedarían totalmente mezcladas y resultaría imposible diferenciarlos. De tal manera, que a medida que el ancho de banda aumenta el pulso se hace más estrecho, es decir que aumenta la resolución del dispositivo.

Coherencia usando una fuente con frecuencias continuas:

Para el entendimiento de las matemáticas de Fourier del primer caso, no resulta sorprendente que mediante el uso de un número finito de frecuencias, como en las secciones previas, la amplitud fluctúe de una manera periódica. Además, esto sugiere que si fuera usado un espectro continuo, se obtendría una función no periódica. Es decir, cuando se tiene gran cantidad de senoidales, el resultado se va asemejando cada vez más a ruido blanco o una señal aleatoria, lo contrario a una señal periódica que es el primer caso (señal monocromática). Por lo que idealmente, el sistema se acerca a la respuesta buscada cuando se tiene un ancho de banda elevado (lo contrario a un láser que tiene un ancho de banda estrecho). Por todo ello se denomina interferometría con baja coherencia y elevado ancho de banda. En conclusión, la resolución de la OCT depende del ancho de banda de la luz, también de más cosas, pero principalmente de ello.

OCT multieco

En los párrafos previos se ha explicado el funcionamiento del interferómetro de Michelson, teniendo en el brazo de muestra un espejo, es decir una superficie plana que refleja toda la luz que le llega. Pero este no es el caso real, en realidad se tiene que medir algo completamente diferente: la retina de un ojo humano, formada por capas semitransparentes que reflejan parte de la luz y parte la transmiten para que a su vez la siguiente capa repita el proceso. Esto significa, que no únicamente se va a tener una reflexión, como se había explicado hasta ahora, sino que se va a tener múltiples reflexiones con un retardo y una intensidad determinados. Podría decirse que cada punto del *A-scan*, en una determinada posición, está caracterizado por coeficiente de reflexión y coeficiente de absorción y que por tanto la reflexión que se obtiene de él será la información empleada para la generación del *A-scan* y posteriormente de la imagen o *B-scan*.

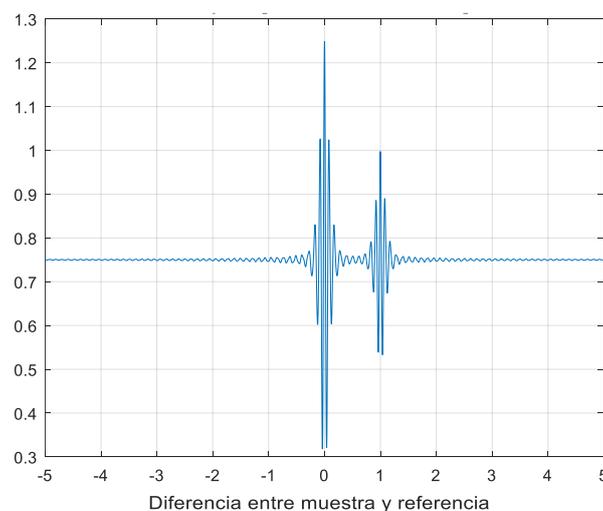


Figura 39. Señal en el detector para dos ecos producidos en la muestra.

Así pues, para finalizar se podría resumir diciendo que para cada *A-scan* (escaneo en profundidad del ojo), el espejo realiza un barrido, realizando movimientos muy pequeños del orden de micras (orden de magnitud de las capas que se quieren medir en la retina del ojo) y según la amplitud de los rebotes que va observando, el detector va “dibujando” pixels más brillantes o menos y generando la imagen.

Continuando con la idea de la importancia que conlleva el ancho de banda se puede observar la Figura 40. En las dos primeras gráficas, con un ancho de banda dado por sigma de 10nm y 20nm, resulta totalmente indistinguible la presencia de dos ecos ya que la luz no tiene el suficiente ancho de banda. En la tercera comienza a diferenciarse y en la cuarta se observa claramente. Así pues, como conclusión se podría decir que claramente la capacidad de diferenciar entre reflexiones próximas depende del ancho de banda de la luz utilizada.

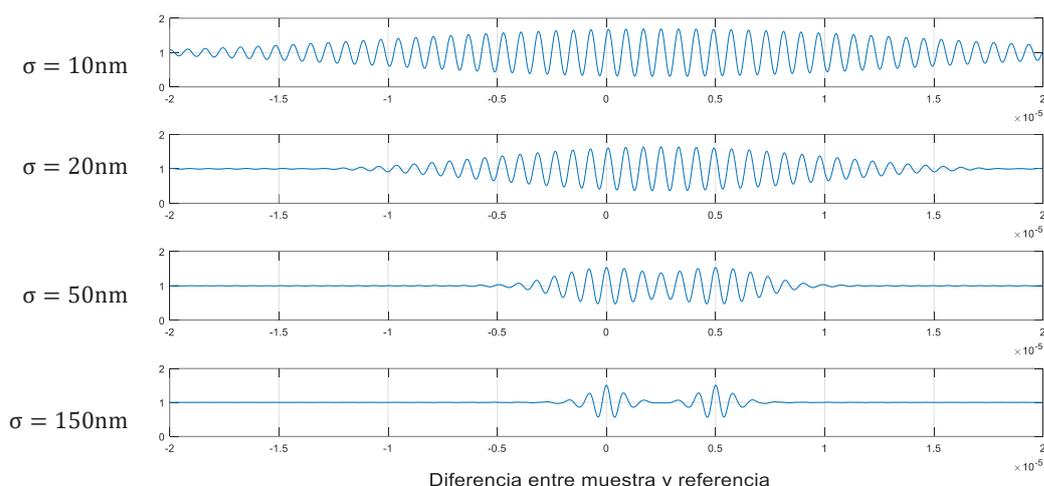


Figura 40. Necesidad de aumento de ancho de banda para diferenciar multieco.

Para finalizar, la última consideración a tener en cuenta sería que a medida que se van produciendo rebotes en las capas y además una cierta absorción, la señal va perdiendo amplitud a lo largo del *A-scan*, por tanto es necesario emplear alguna técnica de tratamiento de señal para la compensación de la misma. Podría ser algo similar a una ecualización, ya que como se sabe cuánta señal se pierde en cada reflexión se puede ir compensando.

2.3.3. Dispositivos actuales

Tomografía de Coherencia Óptica (OCT) ha tomado gran importancia debido a la variedad de información que puede proporcionar, su alta resolución, y los complejos datos tridimensionales (3D) que es capaz de obtener. Se emplea para escanear a través de las capas de muestras de tejido transparente y translúcido estructurado, como la retina, con una resolución axial (en profundidad) muy alta (3-20 μm). En particular, mide el retardo de tiempo de eco y la magnitud de la luz reflejada para construir imágenes bidimensionales y tridimensionales con una resolución de $\sim 20 \mu\text{m}$ (transversal) \times $5 \mu\text{m}$ (axial) para sistemas comerciales y de 2 -3 μm (isotrópico) para sistemas de investigación de gama alta.

Tecnología OCT: temporal o espectral

A lo largo del capítulo anterior se ha desarrollado el funcionamiento del OCT con tecnología en dominio temporal, pero no únicamente existe este tipo de dispositivo, de hecho actualmente el más

relevante y que está desbancando al TDOCT es el que emplea tecnología en dominio espectral (SDOCT), debido a sus mejoras sobre todo en velocidad y calidad de imagen.

Actualmente, hay dos tipos de tecnología OCT disponible [14]:

- TD-OCT (Time Domain Optical Coherence Tomography)

La OCT se podría decir que es análoga a la imagen por ultrasonido pero utilizando luz en lugar de sonido para adquirir imágenes de alta resolución de estructuras. Al igual que el ultrasonido, se crea una imagen valiéndose de diferencias en la reflectividad de diferentes estructuras o capas. Pero a diferencia de las imágenes de ultrasonido, en las cuales el sonido viaja de manera mucho más lenta, la luz viaja tan rápido que se necesita una forma totalmente diferente para procesar la información que llega desde el ojo. Esta tecnología está basada en el concepto de interferometría, como ya se ha visto.

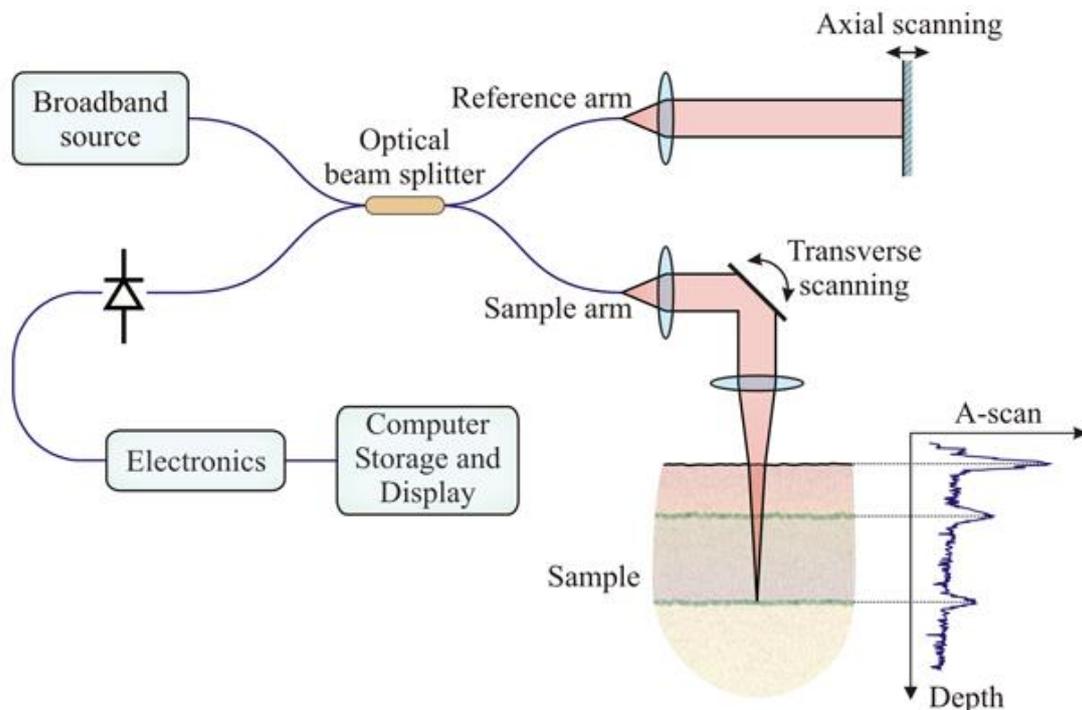


Figura 41. Esquemático TDOCT.

Para la principal máquina TDOCT comercialmente disponible, *Stratus OCT Model 3000* (Carl Zeiss Meditec Inc, Dublin, CA), se emplea el interferómetro con una fuente de luz de diodo láser superluminiscente (SLD) de 820 nm de baja coherencia, cerca del infrarrojo. La resolución axial del *Stratus OCT* es de aproximadamente 10 μm . Este dispositivo realiza mediciones de RNFL, que se adquieren a lo largo de una exploración circular de 3,46 mm de diámetro alrededor del disco óptico.

Más importante aún, la OCT proporciona imágenes que clínicamente resultan muy útiles ya que en ellas la información que se extrae se encuentra muy correlada con la histología de la retina y, por lo tanto, ha demostrado ser una tecnología importante en la evaluación de glaucoma y otras enfermedades oftalmológicas. A pesar de las ventajas de la tecnología OCT, las principales limitaciones del TDOCT comercialmente disponible son: su baja resolución (10 μm) y velocidad de adquisición lenta (1,28 s promedio para una imagen bidimensional compuesta de 512 *A-scan*).

Para obtener imágenes TDOCT de mucha resolución *Ultra High Resolution* (UHR), con resoluciones axiales de $<3 \mu\text{m}$, se emplean láseres hechos con materiales muy específicos como el zafiro, lo cual

aumenta considerablemente el coste del dispositivo (aumenta casi 10 veces el coste del láser en comparación con la fuente de luz SLD de *Stratus OCT3*). Además, existe otra desventaja en cuanto al sistema de imágenes TDHR con elevada resolución UHR, ya que las altas resoluciones se consiguen a expensas de velocidades de adquisición más lentas, debido a la relación inversa entre resolución y velocidad de adquisición.

- SD-OCT (*Spectral Domain Optical Coherence Tomography*)

Hasta finales de 2006, todas las máquinas OCT aceptadas por la FDA² (*Food and Drug Administration*) estaban basadas en la tecnología TDOCT. A partir de este momento, comenzó la comercialización de SDOCT y se convirtió en la única tecnología que proporciona una elevada resolución de manera directa y con velocidades de adquisición muy altas. Esta tecnología es posible porque utiliza un espectrómetro que resulta ser un método mucho más eficiente de procesar la información que regresa del brazo de referencia y el ojo.

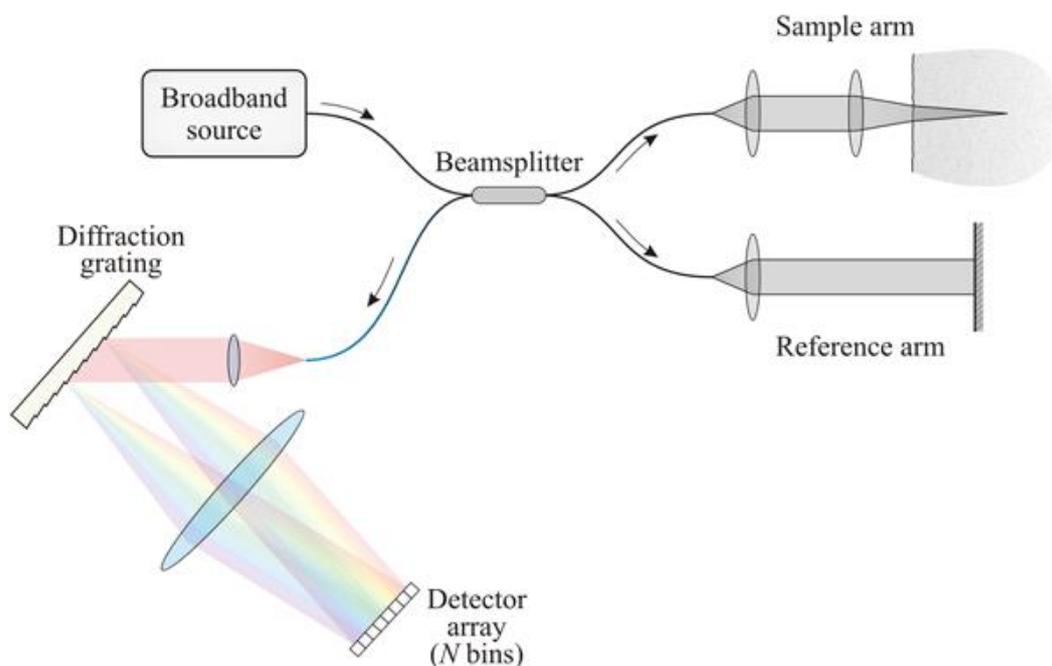


Figura 42. Esquemático SDOCT.

El primer prototipo de sistema SDOCT fue construido en el Hospital General de Massachusetts empleando la misma fuente de luz que en TDOCT (es decir, una fuente de luz SLD o un láser empleando zafiro), en cambio la principal diferencia entre TDOCT y SDOCT es la forma en que se procesa la información a medida que la luz regresa del brazo de referencia y del ojo. La diferencia clave es que en un sistema SDOCT la longitud del brazo de referencia es fija. En lugar de obtener la información de profundidad de la muestra explorando la longitud del brazo de referencia (moviendo el espejo), la luz de salida del interferómetro se analiza con un espectrómetro (de ahí el término dominio espectral). Se puede demostrar que el espectro medido de la salida del interferómetro contiene la misma información que una exploración en profundidad o axial del brazo de referencia. Esta información se

² FDA (*Food and Drug Administration*): es la agencia federal de EE.UU. encargada de la supervisión de los servicios relacionados con la salud. La FDA es responsable del control y supervisión de la seguridad en cuanto a la comida, tabaco, medicinas y dispositivos médicos, entre otras cosas.

obtiene a partir del espectro de salida del interferómetro mediante una Transformada de Fourier del mismo, por ello también es conocida como OCT de dominio de frecuencia (FDOCT).

De manera que, gracias al aumento de eficiencia que conlleva el uso del espectrómetro, es posible la adquisición de datos a una velocidad mucho mayor incluso de señales más débiles. Con SDOCT, la velocidad alcanza los 29.000 *A-scan* por segundo (con una resolución axial de 6 μm), lo que supone que es 73 veces más rápida que la *Stratus OCT3*, TDOCT.

La comercialización de la tecnología OCT, así como su aceptación clínica y su utilización en oftalmología, ha hecho que a lo largo del tiempo hayan ido surgiendo diferentes dispositivos y fabricantes de los mismos. Aunque al principio no resultó fácil debido a su elevado coste asociado al desarrollo e ingeniería necesaria para producir un instrumento clínico de un prototipo de investigación. Afortunadamente, después de que el instrumento de OCT comercial de *Zeiss* fuera introducido en 1996 con una resolución de imagen axial de 10 μm y una velocidad de 100 *A-scans* por segundo, se han producido avances significativos en esta tecnología, y se ha generado diferentes tipos y marcas comerciales de este tipo de dispositivos. Actualmente, concretamente los instrumentos SDOCT disponibles son:

- Cirrus HD-OCT (Carl Zeiss Meditec, Inc, Dublin, California)
- Spectralis SD-OCT (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Germany)
- RTVue (Optovue, Inc, Fremont, California)
- 3D-OCT 1000/200 (Topcon Medical Systems, Inc, Paramus, New Jersey)
- Biopitgen Envisu SD-OCT (Biopitgen, Inc, Research Triangle Park, North Carolina)
- SOCT Copernicus HR (Optopol Technology, SA, Zawiercie, Poland).

Cada instrumento tiene características y software únicos que no únicamente permiten escaneos circulares de la RNFL (*Retinal Nerve Fiber Layer*), escaneos lineales y escaneos 3D en forma de cubo en la zona de la macula, sino que también incluyen *eye tracking*, extracción del parámetros del disco óptico, realce del contraste en las imágenes o capacidad de segmentación.

Además es importante hacer hincapié en existencia de estudios en los que se compara sistemas SD-OCT que muestran diferencias en las medidas del espesor de la retina de un sistema a otro [5]. Un ejemplo de ello es el estudio realizado con 184 personas sanas y con 106 con ojos enfermos usando tres dispositivos diferentes: *Stratus TD-OCT* (*Carl Zeiss Meditec*), Cirrus (*Carl Zeiss Meditec*) y Spectralis (*Heidelberg Engineering, Inc.*). La diferencia en el espesor de la fovea entre dos de las máquinas fue de 24,3 μm . Además, no solamente entre dispositivos de diferente fabricante y misma tecnología hay diferencias significantes, si no que entre dispositivos con tecnologías diferentes también [7], ya que en este estudio se encontró que las medidas del espesor de la retina de los modelos de SD-OCT son también mayores que los obtenidos mediante dispositivos TD-OCT. Por tanto, resulta imprescindible advertir a los clínicos de que sean conscientes de las diferencias existentes en la calibración del sistema, los protocolos de exploración y los algoritmos de segmentación y que estas diferencias podrían contribuir a las disparidades en las mediciones de espesores con diferentes instrumentos [1].

Capítulo 3

Algoritmos empleados

La segmentación de estructuras anatómicas y patológicas en imágenes oftalmológicas es crucial para el diagnóstico de enfermedades oculares. Actualmente, los sistemas comerciales OCT están equipados con software de segmentación principalmente para medir la capa de nervio óptico y el espesor total de la retina. Sin embargo, para otras características oculares de interés, como el espesor de la capa de fotorreceptores, los datos cuantitativos son obtenidos principalmente por segmentación manual. La segmentación manual no sólo requiere examinadores expertos, sino también mucho tiempo para realizarlo. Además, la inherente variabilidad entre examinadores hace que los resultados sean menos consistentes. Por ello se ve la segmentación automática como una necesidad en este tipo de mecanismos de diagnóstico.

Como se ha explicado en capítulos anteriores, la retina del ojo humano está formada por capas con diferentes características de reflexión. Para el estudio de la misma es muy común, en el ámbito de la medicina, emplear imágenes tomadas mediante los dispositivos denominados OCT. Estos dispositivos generan imágenes en escala de grises, mediante el método explicado en el Capítulo 2. En el presente capítulo se explica los procedimientos y algoritmos empleados para tratar de segmentar las diferentes capas de la retina en las imágenes OCT, en este caso, principalmente la capa RNFL ya que es la más relevante en el caso de la detección de glaucoma. De una forma más específica, el objetivo es segmentar los bordes de las capas de la retina, es decir, para la RNFL, la línea existente entre el humor vítreo y la capa en sí, como límite superior de la capa, y la línea que une la capa RNFL y la siguiente capa (CGG), como límite inferior.

Con este fin se emplean dos algoritmos basados en el concepto de segmentación de imágenes, que consiste en la división de la imagen en diferentes grupos de pixels, en este caso cada uno correspondiente a una capa. Se emplea la segmentación con el fin de encontrar los límites de las capas dentro de la imagen y así poder realizar diferentes medidas. Cada una de las capas tiene unas características similares, en este caso una intensidad similar, y entre capa y capa hay una diferencia significativa de intensidad, empleando esta diferencia como información básica para diferenciarlas. Es decir, observando la imagen desde la parte superior hasta la inferior, se va a apreciar una sucesión de

cambios de intensidad de claro a oscuro o de oscuro a claro, que se corresponden con las superficies que delimitan las capas intrarretinales.

Una técnica común para la segmentación consiste en la detección de bordes, que puede realizarse de diferentes maneras, como por ejemplo realizando la transformación divisoria (*watershed*). En este proceso, la imagen en escala de grises se ve como un relieve topográfico, y se calculan las líneas divisorias de agua. En la imagen se puede imaginar que los pixels más claros corresponden a alturas más elevadas en el terreno que los pixels más oscuros. De esta manera, si previamente se realiza el cálculo del gradiente de la imagen, los pixels más brillantes corresponderán a los límites entre regiones.

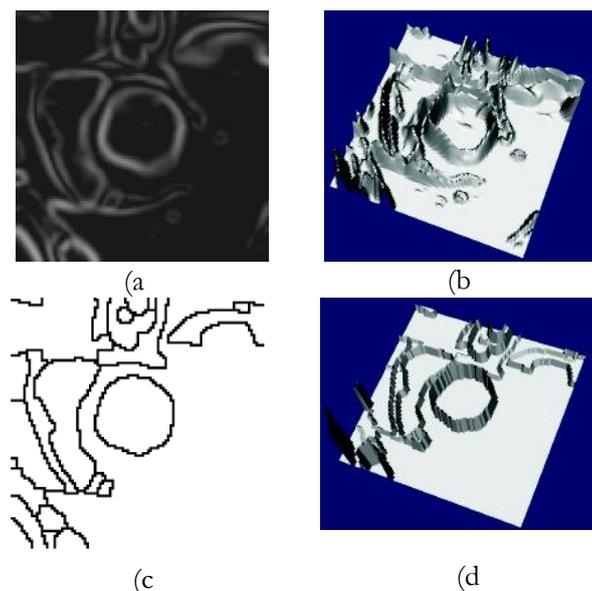


Figura 43. (a) Imagen del gradiente. (b) Relieve del gradiente. (c) Divisorias del gradiente. (d) Divisorias del gradiente (relieve).

3.1. Algoritmo minimal path

Como ya se ha visto anteriormente y se puede apreciar de nuevo en la Figura 45, las capas de la retina son capas horizontales compuestas por diferentes tejidos, cada una de ellas caracterizada por un coeficiente de reflexión distinto, con un nivel de brillo correspondiente a este coeficiente. Por tanto, dos características de estas capas están claras: son estructuras lineales y siempre se extienden desde la parte izquierda de la imagen hasta la parte derecha de la misma. Así pues, se trata de buscar algoritmos capaces de obtener una segmentación correcta partiendo de este hecho como base.

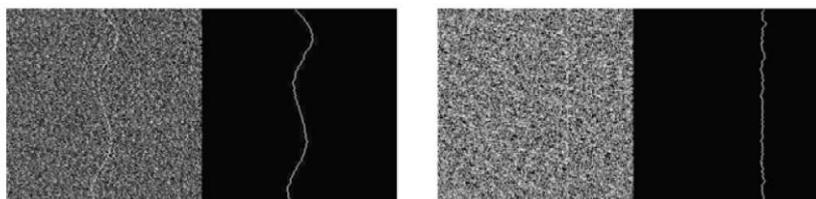


Figura 44. Dos ejemplos del camino más corto en imágenes muy ruidosas.

Se propone el algoritmo *minimal path* como alternativa al algoritmo de transformación divisoria u otros operadores tradicionales capaces de detectar bordes, fibras, líneas, etc. que en casos complejos con estructuras lineales débiles o un elevado nivel de ruido fallan, tal como se explica en [9].

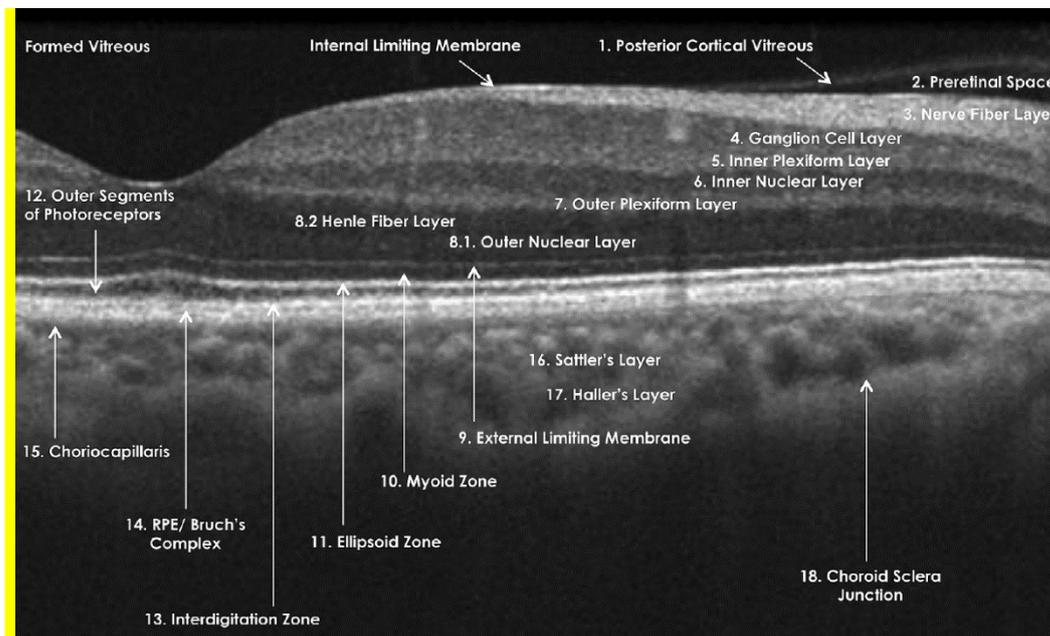


Figura 45. Retina estructurada en capas.

3.1.1. Principio básico

La naturaleza global del algoritmo que se propone es la razón por la que resulta una herramienta potente, pero también conlleva una limitación: para extraer las características lineales deseadas de una imagen en escala de grises (en este caso las capas de la retina), es necesario un conocimiento previo de la localización de los *end-points*. Aunque en ciertos casos esto resulte un problema, en esta aplicación no lo es tanto ya que se sabe que la línea a extraer va desde la parte izquierda de la imagen hasta la derecha, de tal manera que sabiendo esto se restringe la búsqueda usando como marcadores la primera columna y la última columna. En la Figura 45, se pueden observar dos columnas amarillas, primera y última. Esto correspondería a los marcadores necesarios en el algoritmo para indicar en qué zona debe comenzar y acabar la línea con mínimo coste acumulado que se busca.

Para ello, en primer lugar la imagen se ve como una malla de pixels o grafo, G . Este grafo está formado por vértices E que conectan dos pixels vecinos p y q , (típicamente hay 4 u 8 pixels conectados) con un valor:

$$V_I(E) = V_I(p, q) = I(p) + I(q) \quad (6)$$

Es decir, el valor del vértice E que conecta los nodos p y q tiene un valor correspondiente a la suma de las intensidades de los nodos (pixels) p y q .

De tal manera que ahora cada camino P posible a lo largo del grafo, está asociado a un coste C que se corresponde a la suma de todos los valores de los vértices que lo forman. Esto proporciona una nueva métrica de la imagen, para la cual la distancia d_I entre dos pixels p y q es dado por:

$$d_I(p, q) = \min\{C_I(P)\} \quad (7)$$

El problema, por tanto, se reduce a extraer el camino o *path* P con mínimo coste entre dos nodos de acuerdo a la distancia d_I .

Cabe destacar que $C_I(P)$ no se corresponde con la longitud del camino o *path* P , no debe ser confundido erróneamente. La longitud $L(P)$ del camino es igual al número de vértices en P , es decir, el número de pixels menos 1.

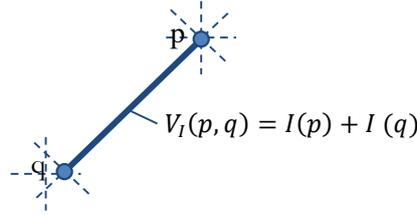


Figura 46. Valor del vértice E entre los píxeles p y q .

El algoritmo [9] básicamente puede ser descrito en dos pasos: en primer lugar la función distancia general (GDF) y en segundo lugar el Global *minimal path* (GMP).

3.1.2. Función distancia general (GDF)

Desde un punto de vista algorítmico, el problema se reduce a computar las funciones distancia. El algoritmo está basado en una modificación de la clásica función distancia secuencial, en la que se tiene en cuenta el coste de los vértices y se itera, tanto de manera *raster* como *anti-raster*, hasta alcanzar la estabilidad.

Se denota como $N^+(p)$ a los vecinos del píxel p escaneados antes que el mismo y $N^-(p)$ a los vecinos del píxel p escaneados después que p el mismo en orden *raster*. En este grafo, para cada vértice entre dos píxeles vecinos p y q de una imagen se asocia el valor del coste $C_I(p, q) = I(p) + I(q)$, como se ha explicado en la introducción, o cualquier otra función monótonamente creciente, tal como $\max(I(p), I(q))$ o $\min(I(p), I(q))$.

Así pues, el procedimiento para la obtención de la Función Distancia GDF sigue los pasos que se detallan a continuación:

1. Se inicializa la imagen resultado f , conociendo los píxeles correspondientes al marcador de la posición del *endpoint*, X es el subconjunto que pertenece al marcador:

$$\begin{cases} d(p) = 0, & p \in X \\ d(p) = +\infty, & p \notin X \end{cases} \quad (8)$$

Se inicializa la función distancia con valor nulo en la zona de la imagen donde es conocido que puede estar un *endpoint*, en este caso en el extremo izquierdo o el derecho, ya que es conocido que la capa va de lado a lado de la imagen.

2. Se itera en primer en orden *raster* y en segundo lugar en *antiraster*, hasta que se consigue la estabilidad, es decir, que la diferencia de la función distancia en iteraciones consecutivas tiene un valor reducido, especificado al comienzo del algoritmo ($u = 0.001$ en este caso):

- En orden *raster*:

$$d(p) \leftarrow \min\{ d(p), \min\{d(q) + C_f(p, q), \quad q \in N^+(p)\} \} \quad (9)$$

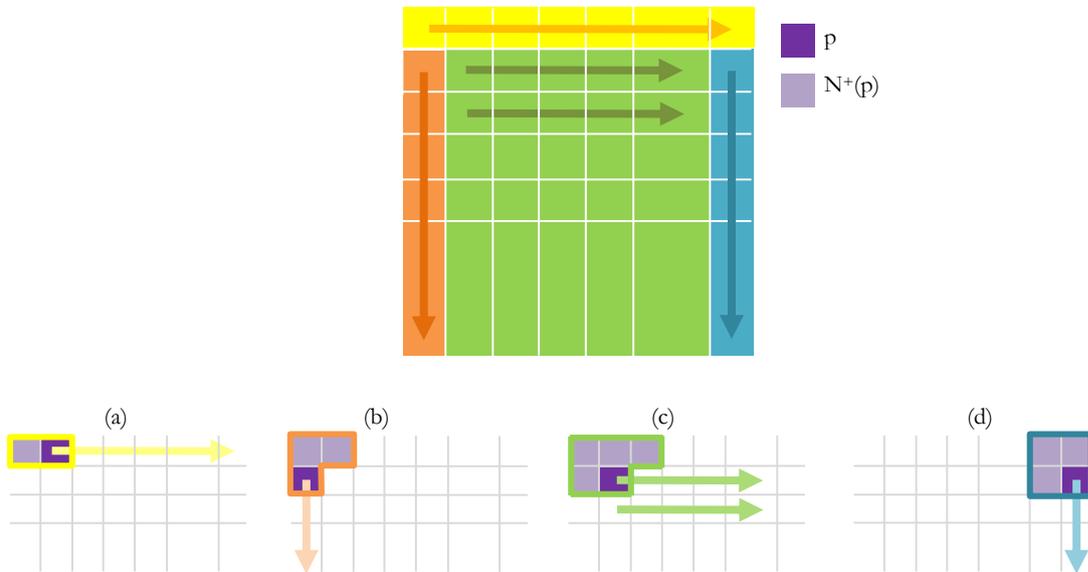


Figura 47. Cálculo de la *f. distancia, raster*. (a) Primera fila. (b) Primera columna. (c) Resto columnas. (d) Última columna.

Se calcula en primer lugar la primera fila, teniendo como único pixel vecino el inmediato izquierdo, y a continuación se procede a procesar el resto de las mismas. Así pues, para el resto de las filas, primero se procede al procesamiento de la primera columna, teniendo como vecinos escaneados antes que él el pixel superior y superior derecho. El resto de columnas es procesado teniendo como vecinos los tres superiores y el izquierdo, excepto la última columna que únicamente tiene dos superiores y el izquierdo.

- En orden *antiraster*:

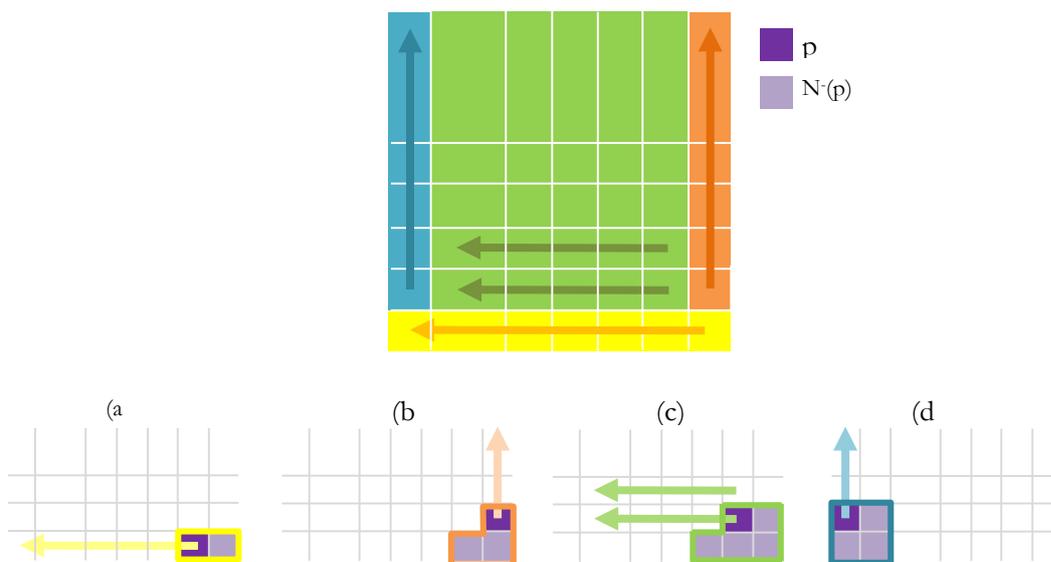


Figura 48. Cálculo de la *f. distancia, antiraster*. (a) Última fila (b) Última columna (c) Resto columnas (d) Primera columna.

$$d(p) \leftarrow \min\{ d(p), \min\{d(q) + C_f(p, q), \quad q \in N^-(p)\} \} \quad (10)$$

Se realizan los cálculos justo en el orden opuesto: en primer lugar la última fila, en segundo lugar la última columna; a continuación el resto de las columnas y finalmente la primera columna, tal y como se observa en la Figura 48.

3.1.3. Global minimal path (GMP)

Una vez se tiene la función distancia calculada a lo largo de toda la imagen, para un problema simple de búsqueda del camino con mínimo coste (o camino mínimo global, GMP) yendo desde el extremo izquierdo (L) al derecho (R) de la imagen, un pixel p pertenece a un mínimo camino si y solo si $d_f(p, L) + d_f(p, R) = d_f(L, R)$. De tal manera que para extraer el *Left/Right* GMP, es decir la capa que se extiende a lo largo de toda la imagen desde el extremo izquierdo al derecho en la imagen f , se puede proceder de la siguiente manera:

1. Primero se debe invertir la imagen, Figura 49, ya que el resultado obtenido mediante este algoritmo *minimal path* se corresponde al camino con menor coste, y en este caso corresponde a la suma de las intensidades de los nodos que forman cada vértice, tal y como se ha visto antes $C_f(p, q) = I(p) + I(q)$. Por tanto, el resultado va a ser un camino que siga la línea más oscura, con menos intensidad, de la imagen.

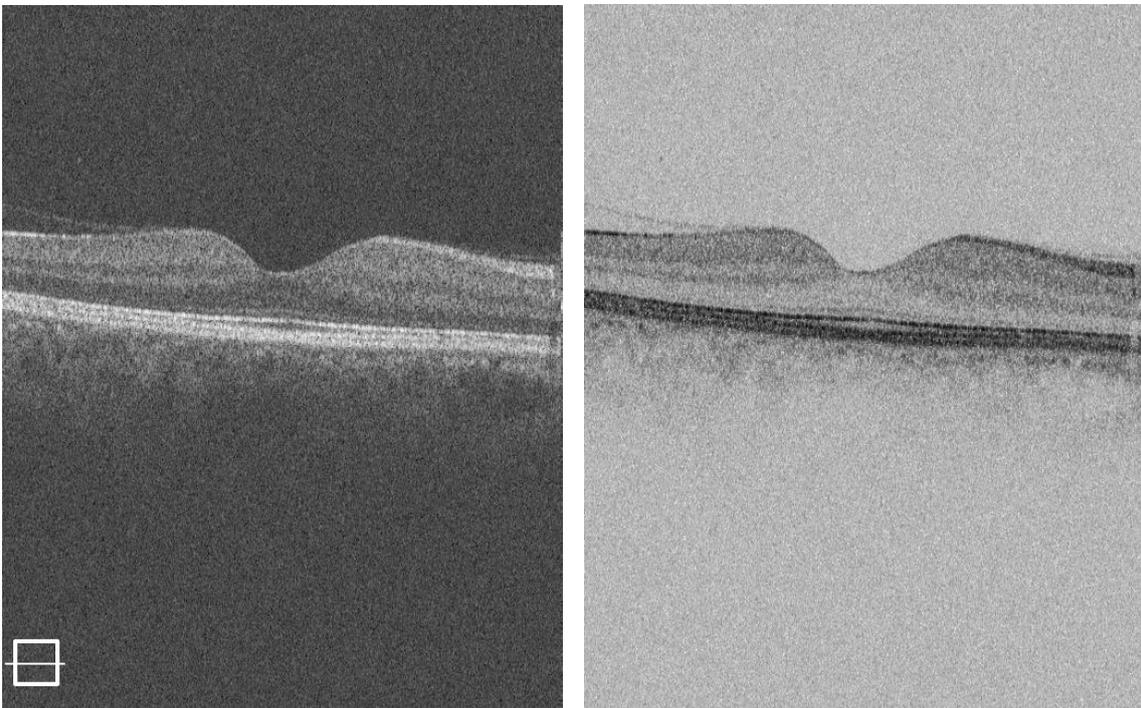


Figura 49. Izquierda: imagen original. Derecha: imagen invertida.

2. Computar la función distancia GDF teniendo el conjunto L como marcador, es decir la columna izquierda (la primera) de la imagen f , para cada pixel $p : d_f(p, L)$.

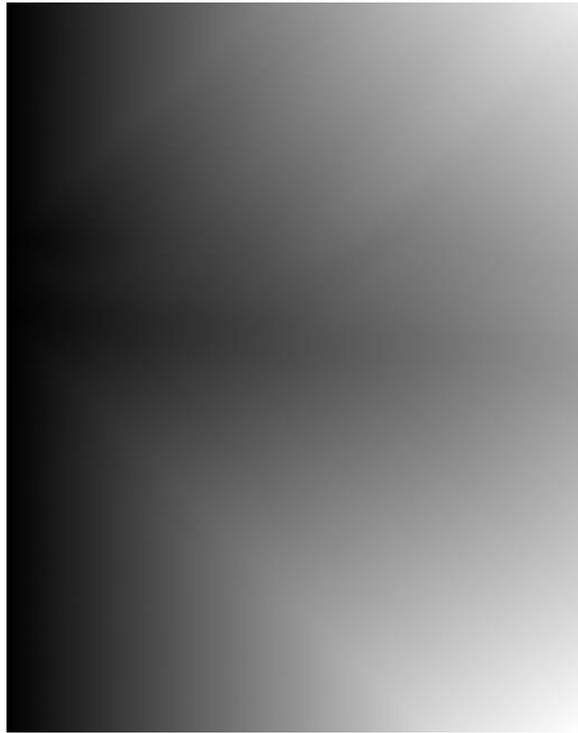


Figura 50. Función distancia desde la izquierda, $d(p,L)$.

3. Computar la función distancia GDF teniendo l conjunto D como marcador, es decir la columna derecha (la última) de la imagen f , para cada pixel p : $d_f(p, R)$.

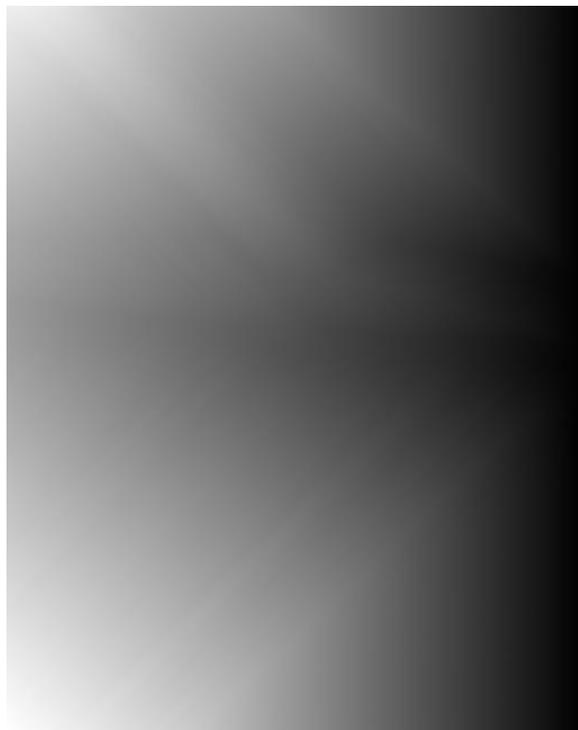


Figura 51. Función distancia desde la derecha, $d(p,R)$.

4. Sumar estas funciones distancia $d_f(L, R)(p) = d_f(p, L) + d_f(p, R)$.



Figura 52. Suma de las funciones distancia.

5. Encontrar u_{min} , el mínimo valor de $d_f(U, D)$ y umbralizar el resultado para mantener únicamente los pixels con valores en $d_f(U, D)$ que sean iguales a u_{min} . El resultado es el camino mínimo buscado:

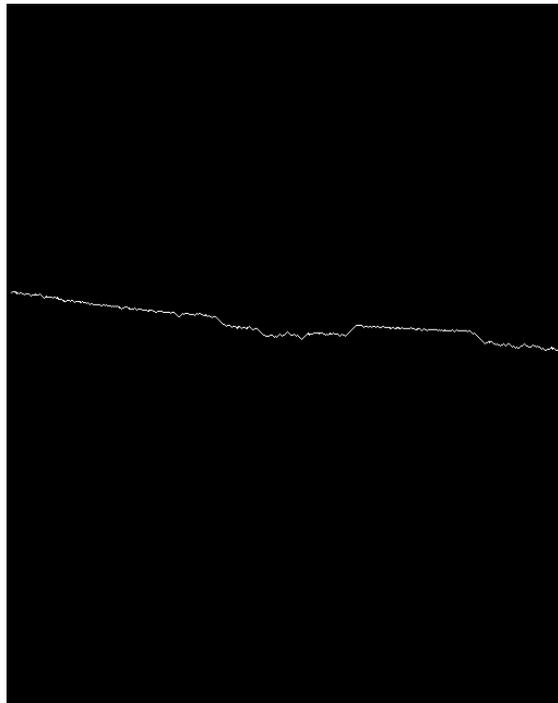


Figura 53. Minimal path.

A continuación, se puede ver el resultado obtenido sobre la imagen original:

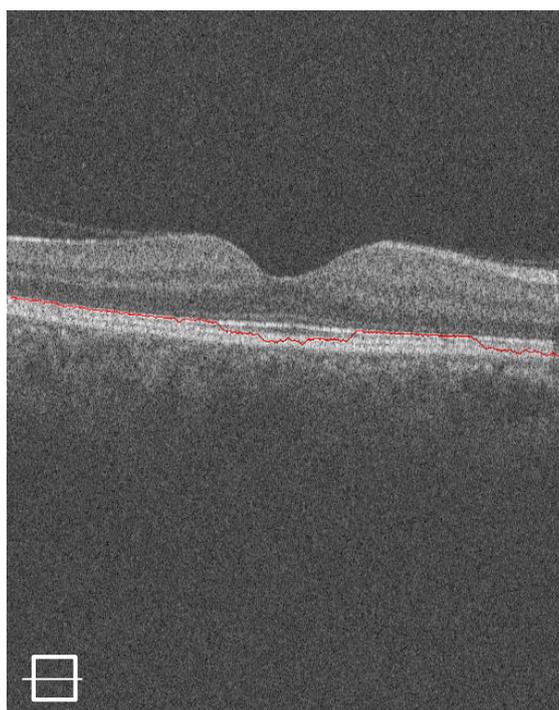
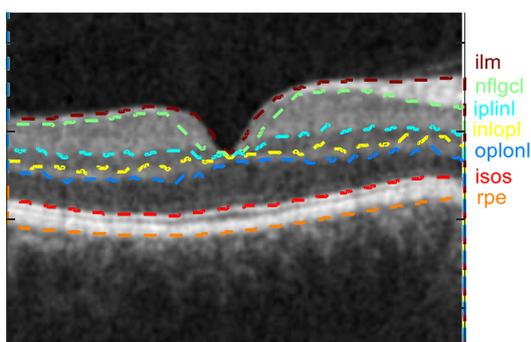


Figura 54. Resultado algoritmo minimal path.

3.2. Algoritmo de segmentación automática de la capa RNFL

A continuación, se pasa a exponer de forma resumida los pasos del proceso que sigue el algoritmo escogido para la segmentación de los límites de la capa RNFL [4]. Este algoritmo tiene como objetivo la segmentación de siete capas de la retina en imágenes SDOCT (*Spectral Domain Optical Coherence Tomography*) centradas en la mácula. En cambio, en el presente trabajo se va a tratar de emplear de una manera más amplia con el fin de poder segmentar también imágenes centradas en disco. Además se va a emplear particularizado únicamente para la capa de interés del trabajo, la capa RNFL.



| CAPAS | LÍMITES SEGMENTADOS |
|----------------------------------|---------------------|
| ILM : Internal Limiting Membrane | ilm |
| NFL : Nerve Fiber Layer | nflgcl |
| GCL : Ganglion Cell Layer | |
| IPL : Innerr Plexiform Layer | iplinl |
| INL : Inner Nuclear Layer | inlopl |
| OPL : Outer Plexiform Layer | |
| ONL : Outer Nuclear Layer | oplonl |
| IS : Inner Segment | isos |
| OS : Outer Segment | |
| RPE : Retinal Pigment Epithelium | rpe |

Figura 55. Ejemplo de imagen segmentada por el algoritmo centrada en mácula.

Con el fin de conocer qué capas de la retina es capaz de segmentar el algoritmo, se presenta un resultado obtenido mediante el mismo en una imagen centrada en la mácula. Además, se observa la imagen de las capas de la retina explicadas anteriormente, Figura 56, con el fin de poder contextualizar y comparar los resultados obtenidos con las capas antes introducidas. Como se puede observar en la tabla de la Figura 55, las capas segmentadas por el algoritmo son: **ilm**, **mfli**, **gcl+ipl**, **inl**, **opl**, **isos** y **rpe**.

Puede apreciarse que el algoritmo realiza ciertos agrupamientos de capas y además existe algún cambio en la nomenclatura de las capas de la retina, de acuerdo con la imagen de la Figura 56 de la Asociación Oftalmológica Americana [13]:

- las capas **gcl** e **ipl** son segmentadas conjuntamente, ya que como se observa incluso en la imagen de la Figura 56, estas capas son muy difíciles de diferenciar, ya que tienen prácticamente el mismo valor de intensidad,
- la capa denominada en el algoritmo como **isos**, actualmente ha pasado a llamarse **Ellipsoid Zone**,
- la capa **rpe**, también es llamada actualmente como **Complejo de Bruch**.

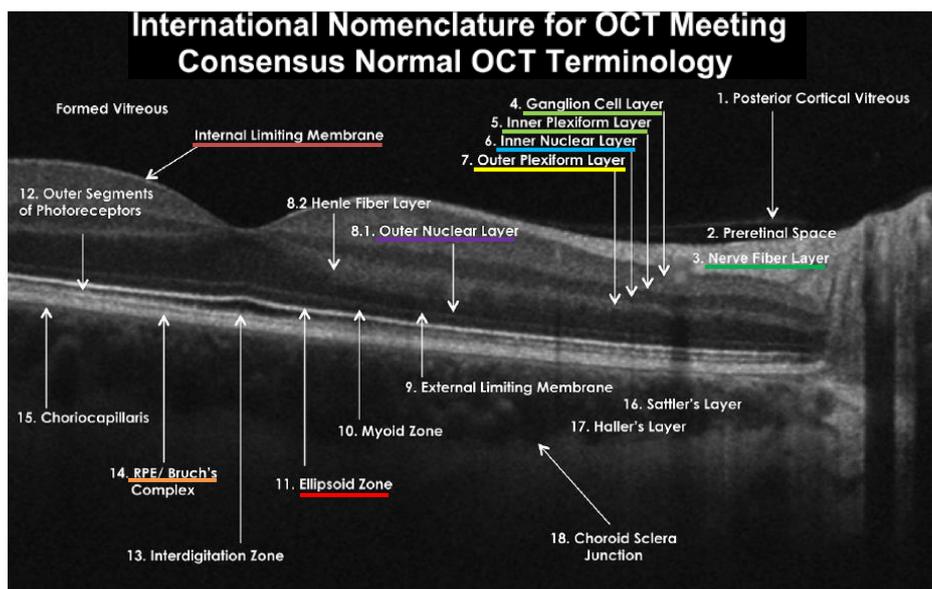


Figura 56. *International Nomenclature for OCT Meeting Consensus Normal OCT Terminology.*

Una vez conocidas las capas que se van a segmentar, se pasa a describir de forma básica este algoritmo basado en Teoría de Grafos y Programación Dinámica. Se trata de un método robusto capaz de segmentar incluso imágenes con presencia de patología, como se observa en la imagen de la Figura 57. Además, mientras muchas técnicas de segmentación se basan en datos volumétricos para segmentar las estructuras anatómicas, este algoritmo es capaz de segmentar ciertas características de los *B-scans* de una manera muy precisa, lo que supone una gran ventaja en el caso de que no estén disponibles los datos volumétricos.

3.2.2. Algoritmo general de segmentación

A continuación, una vez ha sido introducido, se pasa a explicar los pasos que sigue un algoritmo general de segmentación de capas, pudiendo consultar en más detalle en [4], los cuales pueden verse en forma de esquema en la Figura 59.



Figura 59. Esquema de un algoritmo general de segmentación.

3.2.2.1. Cálculo de pesos

Éste resulta el paso clave para una segmentación precisa. Las métricas más comunes para el cálculo de los pesos están basadas en la función distancia, como en el caso del apartado anterior dedicado al algoritmo de *minimal path*, así como en la diferencia de intensidad (gradiente), que es la empleada en este algoritmo. Por lo tanto, cada nodo está asociado únicamente con sus ocho vecinos más cercanos.

En imágenes SDOCT, las capas de la retina son principalmente estructuras horizontales distinguibles por un cambio en la intensidad en dirección vertical. Los pesos, por tanto, pueden ser calculados de manera que el gradiente de intensidad en vertical sea la base de los mismos:

$$w_{ab} = 2 - (g_a + g_b) + w_{min} \quad (11)$$

- w_{ab} es el peso del *edge* que conecta los nodos a y b,
- g_a es el valor del gradiente vertical de la imagen en el nodo a,
- g_b es el valor del gradiente vertical de la imagen en el nodo b,
- w_{min} es el mínimo peso del grafo, un valor positivo pequeño que se añade para la estabilización del sistema.

La Ecuación 11 asigna valores de peso pequeños a pares de nodos con gradientes verticales elevados. En la implementación de este algoritmo en particular, g_a y g_b están normalizados a valores entre 0 y 1, y $w_{min} = 1 \cdot 10^{-5}$.

Estos pesos se emplean teniendo en cuenta la direccionalidad del gradiente. Para la segmentación del límite entre el humor vítreo y la capa RNFL, por ejemplo, se sabe que el límite tiene una capa oscura sobre una capa clara, es decir, una transición *dark-to-light*. En cambio, el límite de las capas RNFL-GCL, siendo la RNFL más brillante que la GCL, tiene una transición *light-to-dark*.

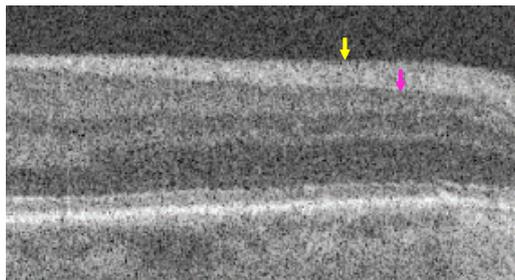


Figura 60. Transición vitreo-RNFL *dark-to-light* y transición RNFL-GCL *light-to-dark*.

Por tanto, para la implementación del algoritmo se cuenta con dos matrices de adyacencia sensibles a cambios de oscuro a claro y de claro a oscuro.

Para límites entre capas que tienen una capa oscura sobre una clara se emplea una imagen gradiente para generar la matriz de adyacencia oscuro-claro, *dark-to-light*:

Límites entre capas

- Vitreous-NFL
- INL-OPL
- IS-OS
- OS-RPE

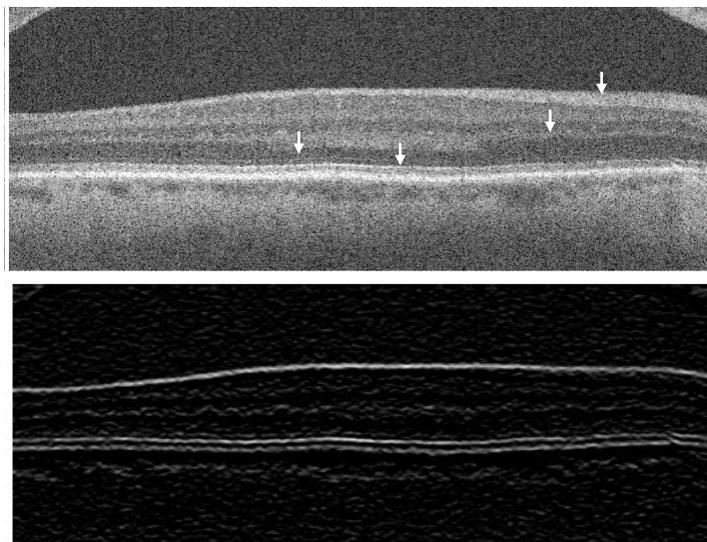


Figura 61. Superior: Capas con matriz de adyacencia oscuro-claro, dark-to-light. Inferior: Imagen gradiente vertical, empleadas para calcular los pesos del grafo, dark-to-light.

En cambio, donde se encuentra una capa brillante sobre una oscura se emplea una imagen gradiente para generar la matriz de adyacencia claro-oscuro, *light-to-dark*.

Límites entre capas

- NFL-GCL
- IPL-INL
- OPL-PRNL
- PRE-choroid

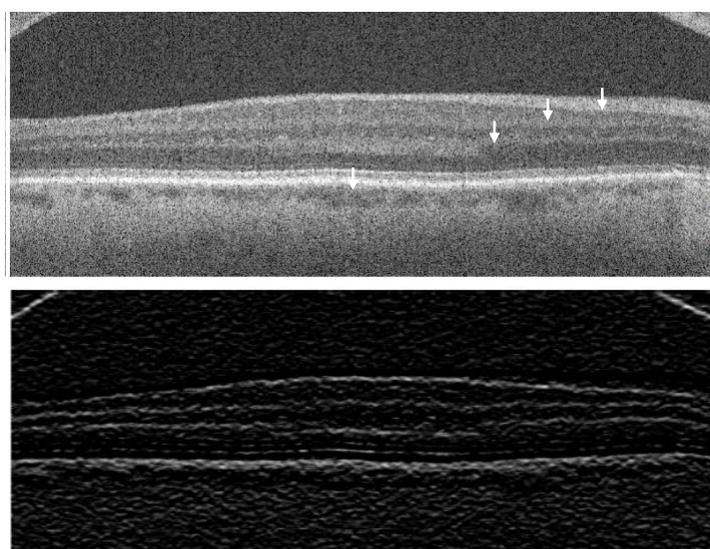


Figura 62. Superior: Capas con matriz de adyacencia claro-oscuro, light-to-dark. Inferior: Imagen gradiente vertical, empleadas para calcular los pesos del grafo, light-to-dark.

3.2.2.2. Inicialización automática

Como ya se ha visto, la segmentación corresponde a un camino con suma de los pesos de las aristas que lo forman mínimo en comparación con el resto de posibles caminos. Para poder calcularlo,

es necesario conocer el nodo donde empieza y donde acaba. Con este propósito, el algoritmo, cuenta con un proceso de inicialización automática de los *endpoints* de manera que no haga falta una selección manual de los mismos.

El algoritmo de inicialización está basado en la suposición de que la capa a segmentar se extiende a lo largo de la anchura total de la imagen. Ya que el algoritmo de Dijkstra detecta los caminos de mínimo peso, se añade una columna adicional de nodos en ambas partes de la imagen con un valor arbitrario de intensidad y valor w_{min} asignado a los *edges* en dirección vertical. Nótese que, w_{min} es más pequeño que ningún valor no nulo en la matriz de adyacencia del grafo original. Al hacerlo, los nodos añadidos en las nuevas columnas mantienen su conectividad y el *path* buscado es capaz de atravesar esas columnas en dirección vertical con una mínima resistencia. Esto permite que los *endpoints* sean asignados arbitrariamente en esas nuevas columnas añadidas y el corte de segmentación se mueva libremente a lo largo de esas columnas. Una vez la imagen ha sido segmentada, las dos columnas adicionales pueden ser eliminadas, dejando un corte exacto sin error de inicialización del *endpoint*.

La Figura 63 es un ejemplo de segmentación de una imagen usando la técnica de inicialización automática. Los puntos de comienzo y final del camino son inicializados en la esquina superior izquierda y en la esquina inferior derecha, respectivamente. Los pesos son asignados en función de la intensidad del pixel, donde oscuro corresponde a un peso pequeño. La línea roja representa el resultado de la segmentación mediante el algoritmo de Dijkstra. Finalmente, las columnas añadidas previamente pueden ser eliminadas, dejando como resultado una segmentación exacta pese a haber asignado arbitrariamente los *endpoints* a los pixels superior izquierdo e inferior derecho.

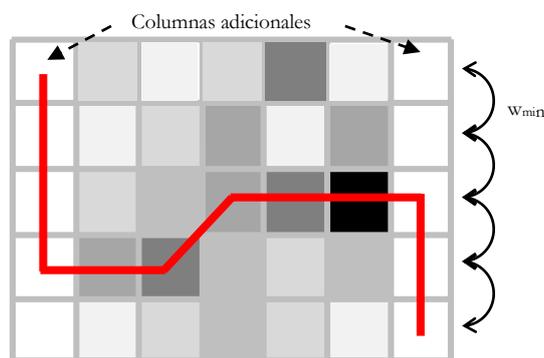


Figura 63. Un ejemplo de segmentación usando inicialización de los endpoint automática.

3.2.2.3. Limitación de la sección de búsqueda

Frecuentemente la capa que se desea segmentar se encuentra rodeada de estructuras que no pertenecen a la misma pero tienen características similares, intensidades similares (por ejemplo, las regiones IPL y OPL de la retina).

Para prevenir al algoritmo de una segmentación accidental de estas estructuras, resulta de gran ayuda limitar el grafo a una región válida de búsqueda que excluya cualquier estructura extraña. En términos de teoría de grafos, esto significa que los pesos de los *edges* de esas regiones inválidas deben ser eliminados previamente a la realización del corte del grafo.

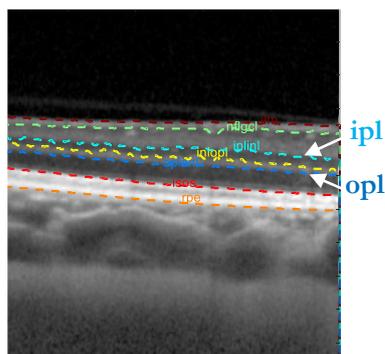


Figura 64. IPL y OPL pueden ser confundidas ya que tienen características similares.

Por ejemplo, si la región INL está ya correctamente segmentada, se pueden declarar todos los nodos pertenecientes a INL o por encima de ella como inválidos cuando se está buscando el borde de la región OPL. En la Figura 65, se puede ver un ejemplo de ello, donde la zona marcada en amarillo corresponde a la zona donde los pixels serían declarados como inválidos.

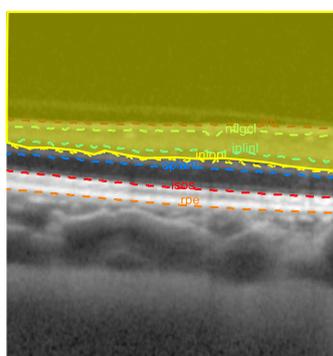


Figura 65. Los nodos pertenecientes a INL o por encima de ella declarados como inválidos.

3.2.2.4. Camino con mínimo peso acumulado

Dado un grafo con pesos asociados se puede determinar la segmentación deseada buscando el camino con mínima suma de pesos acumulada de los pesos que conectan dos *endpoints*. El algoritmo de Teoría de Grafos empleado es el algoritmo de Dijkstra. Sin embargo, otros algoritmos de optimización podrían ser empleados, como la técnica de *max-flow-min-cut*.

3.2.3. Algoritmo específico de segmentación de 7 capas

Además de los principales métodos explicados en el apartado anterior, el algoritmo posee dos métodos que lo hacen más preciso: detección de **vasos sanguíneos** y **detección de la fóvea**.

- **Detección de vasos sanguíneos.**

Las imágenes SDOCT de la retina con vasos sanguíneos prominentes suponen una complicación para la segmentación de los límites NFL-GCL, ya que en esta capa se observan como protuberancias hiperreflectivas. Para solucionar este problema, se incorpora un método que detecta vasos en *B-scan* individuales, haciendo el algoritmo de Dijkstra indiferente a ellos en la capa NFL.

A partir de la segmentación piloto de la capa RPE-*choroid*, y mediante el uso de un filtro gaussiano, entre otros procedimientos de tratamiento de la imagen, se calculan las zonas oscuras que constituyen vasos sanguíneos justo por encima de esta capa. Una vez detectadas estas zonas, se asigna pesos a los *edges* en las regiones de vasos como W_{min} . Por tanto, ahora el algoritmo será indiferente a las regiones de vasos.

Como se puede observar, efectivamente los vasos sanguíneos aparecen en las imágenes SDOCT como pequeñas zonas hiperreflectivas sobre la RNFL y a continuación, sombras que se extienden hasta la RPE.

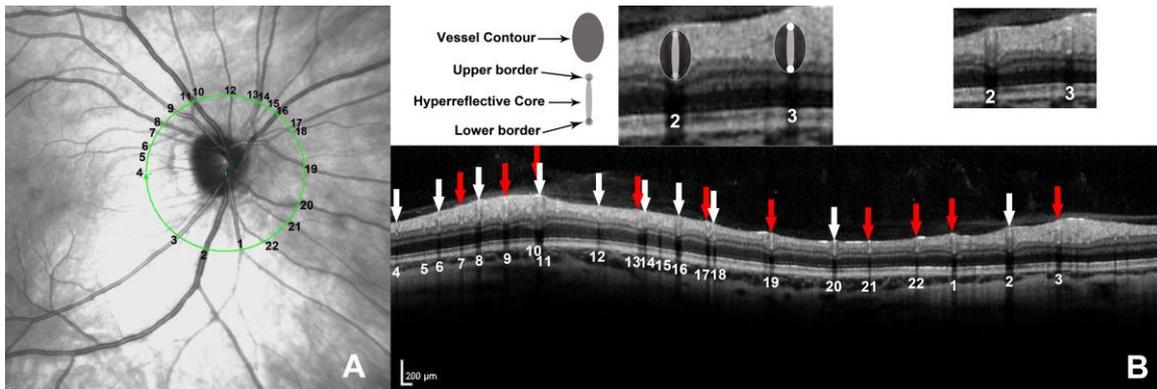


Figura 66. A. Imagen de fondo de ojo con 22 vasos sanguíneos identificados. B: Imagen OCT obtenida mediante scan circular, en la cual se observan los 22 vasos de A identificados también.

- Detección de la fovea.

En primer lugar se trata de conocer el centro de la localización de la fovea, que se encuentra sabiendo que es el lugar donde las capas, especialmente las superiores, reducen más su espesor. En segundo lugar, se define de manera más exacta las regiones de búsqueda teniendo en cuenta la fusión de las capas producida por la fovea. La segmentación resultante es mucho más precisa.

Una vez son conocidos estos cuatro principales conceptos de los que se sirve el algoritmo, así como los dos métodos especiales para mejorar la precisión de la segmentación, se pasa a explicar brevemente un método de segmentación de múltiples capas, el cual emplea un proceso iterativo, donde los límites de las capas son detectados por orden de prominencia, es decir, las capas más brillantes en primer lugar. Como ya se ha dicho, para la segmentación de las capas se emplea: la asignación de pesos mediante la matriz de adyacencia *dark-to-light* o *light-to-dark* en función de la capa que se esté segmentando, el método de inicialización automática, la restricción de la región búsqueda, el método de Dijkstra y, finalmente, todo ello es complementado con los métodos de detección de vasos y de detección de la fovea.

El algoritmo en detalle puede verse en [4] como ya se ha dicho, pero principalmente podría resumirse en el esquema de la Figura 67. En primer lugar se realiza el cálculo de los pesos mediante las dos matrices de adyacencia, a continuación se segmentan provisionalmente dos de las capas más prominentes, *vitreous*-NFL e IS-OS, cuya posición servirá como límite de la sección de búsqueda de procesos de segmentación de las sucesivas capas. A continuación, mediante procesos de realce de contraste, umbralizado, operadores morfológicos, entre otros, se obtiene una máscara binaria de la localización aproximada de las capas hiperreflectivas que también servirán como límites de región de búsqueda. El siguiente paso consiste en la detección de las zonas donde se encuentran los vasos sanguíneos, que se localizan gracias a la segmentación previa de la RPE (capa muy reflectiva), que es la

capa necesaria para encontrar las sombras que producen los vasos en ella y en la zona inmediatamente superior. Finalmente, tras la localización de la fovea mediante la segmentación previa y provisional de las capas IPL-INL, INL-OPL y OPL-ONL y con toda la información obtenida hasta el momento, se pasa a resegmentar las capas empleando regiones de búsqueda más precisas que permiten una segmentación más exacta.



Figura 67. Esquema del algoritmo detallado paso a paso.

Capítulo 4

Adaptación de los algoritmos

Una vez ha sido explicado en el capítulo anterior los dos algoritmos en los cuales se basa la segmentación de este proyecto, se pasa a explicar ciertas modificaciones realizadas a los mismos con el fin de obtener los resultados deseados.

4.1. Algoritmo minimal path

En primer lugar, como una primera aproximación se trata de obtener la posición de las capas de interés, sobre todo la RNFL. Mediante este algoritmo no se obtiene exactamente el límite entre dos capas (limitante superior y limitante inferior de la RNFL), como se querría para realizar una segmentación precisa, pero se obtiene una primera aproximación de la localización de la capa deseada. Esta aproximación podría emplearse como una restricción de la región de búsqueda.

Una vez implementado, se observan dos problemas a tratar de solucionar:

1. Detección en primer lugar del conjunto $RPE+Ellipsoid$ ya que suele ser la zona más brillante en este tipo de imágenes. Esto se debe a que este algoritmo está implementado para obtener el camino más corto con mínimo coste, es decir, con mínima intensidad (la imagen de entrada es invertida previamente, como se ha explicado anteriormente, así pues. Las zonas más brillantes pasan a ser las más oscuras y con menor intensidad).
2. Se trata de un algoritmo lento en su implementación mediante una función de Matlab.

A continuación, se pasa a explicar las modificaciones llevadas a cabo con el fin de poder solucionar estos problemas en la medida de lo posible.

4.1.1. Localización de la capa RPE+Ellipsoid

Como se ha explicado anteriormente, el algoritmo llamado *minimal path* es capaz de segmentar, de una imagen en escala de grises muy ruidosa, una línea fina mediante el uso de la función distancia. En el caso de las imágenes de este proyecto, imágenes OCT, lo que primero segmenta es el conjunto RPE+*Ellipsoid* ya que se trata de la zona más brillante, como se puede observar en la siguiente imagen, Figura 68:

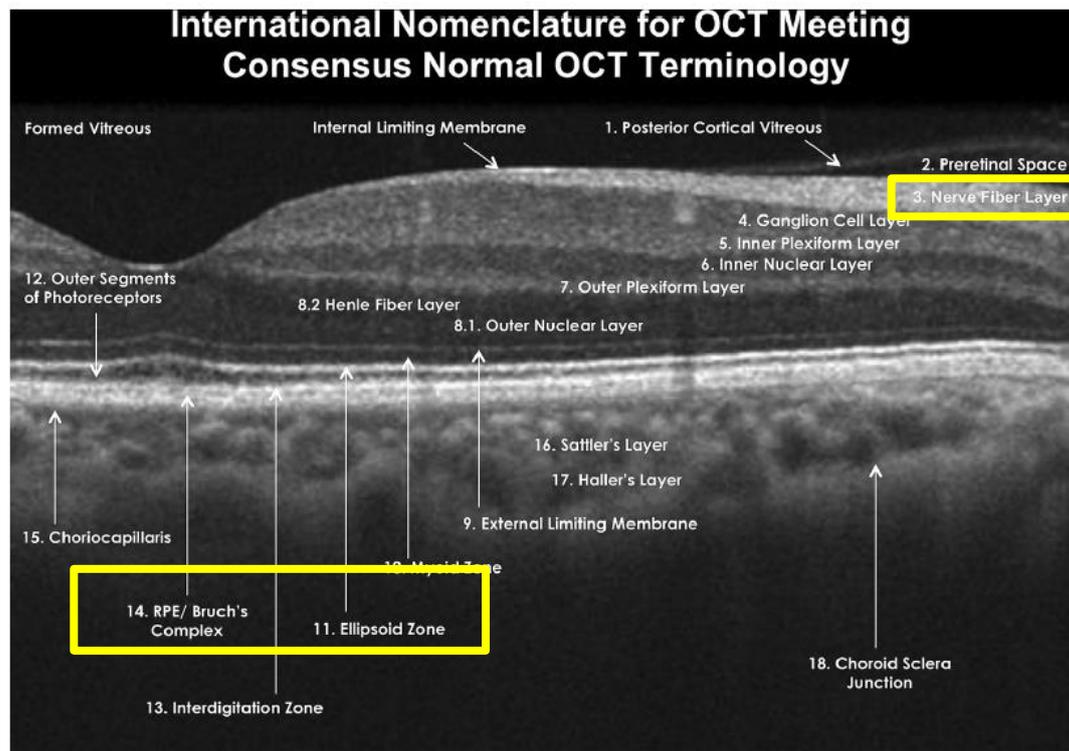


Figura 68. Localización de la capa RPE+Ellipsoid-zone y la RNFL.

Se puede apreciar como la segunda capa más brillante de estas imágenes suele ser la capa RNFL, es decir, la capa de interés para este proyecto. Por tanto, se trata de, una vez localizada la zona RPE eliminarla de la imagen, con el fin de conseguir que la capa más brillante sea la RNFL y pueda segmentarse correctamente. Así pues, mediante la dilatación del primer resultado obtenido (zona RPE), se elimina esa región de la imagen y se vuelve a aplicar el algoritmo sobre esta imagen. Ahora sí se obtiene una primera aproximación de la capa RNFL, como se ha comentado antes, no es una segmentación precisa pero da una primera información sobre la posición y forma aproximada de esta capa. En el Capítulo 5 se puede observar más ejemplos de ello.

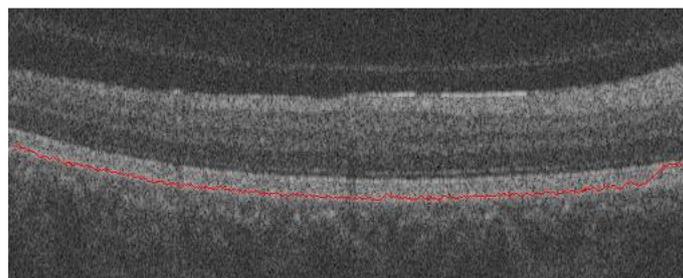


Figura 69. Localización de la zona RPE.

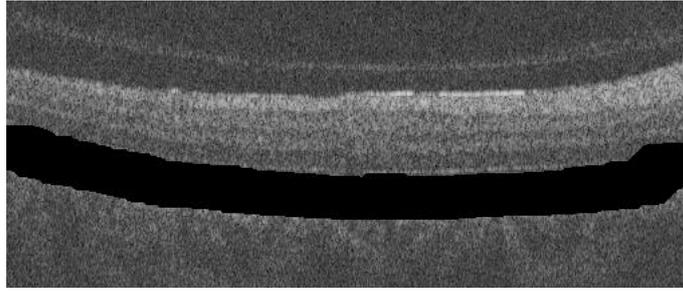


Figura 70. Proceso de eliminación de la zona de la capa RPE, mediante la dilatación del resultado previo.

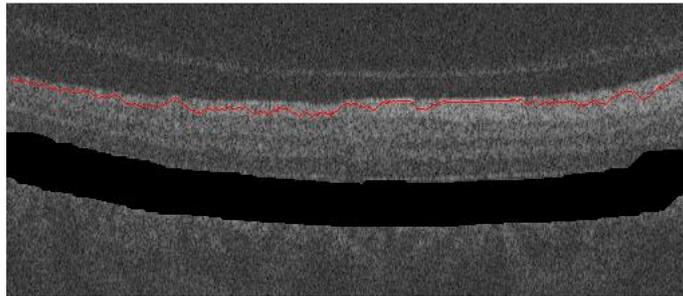


Figura 71. Obtención de la localización de la capa RNFL.

4.1.2. Minimal path empleando mex

Otro de los puntos a mejorar del algoritmo es el tiempo computacional. En primer lugar, el algoritmo es implementado mediante una función de Matlab directamente y, debido a su naturaleza, este programa realiza con lentitud las operaciones con matrices y bucles. Así pues se trata de buscar una solución, y se piensa en la posibilidad de emplear C con el fin de acelerar el algoritmo. Para ello es necesario el conocimiento previo de los archivos mex.

Un archivo mex (*MATLAB executable*) sirve como interfaz entre Matlab y funciones escritas en C/C++ o Fortran. En primer lugar, mediante el compilador de este tipo de archivos que debe estar instalado en Matlab, se compila. A continuación, en cualquier script de Matlab los archivos mex pueden ser invocados, pueden ser empleados directamente como funciones propias. Para soportar el desarrollo de archivos mex, Matlab ofrece funciones de interfaz externa que facilitan la transferencia de datos entre archivos mex y el espacio de trabajo, por ejemplo, la función `mexprintf(message)` imprime por pantalla el mensaje indicado de igual forma que lo haría `printf` en C.

Partes esenciales de un archivo MEX

Como ya se ha introducido, los archivos mex sirven como interfaz, así pues son necesarios para emplear simultáneamente código escrito en C y Matlab.

A continuación, se puede observar un esquema, Figura 72, con las partes necesarias de estos archivos:

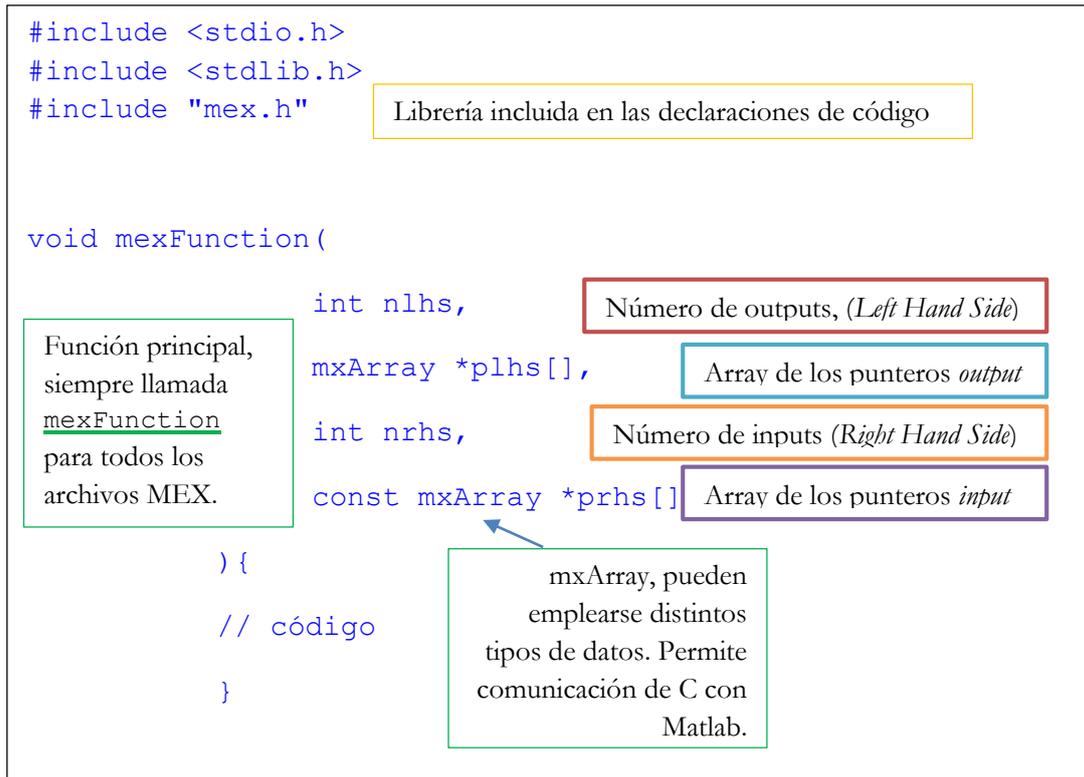


Figura 72. Partes esenciales de un archivo MEX.

Por tanto, como se puede ver a continuación, desarrollando en C la misma función previamente implementada en Matlab con la misma estructura exactamente, se obtiene una mejora en términos de rendimiento de entre 60 y 80 veces. En la Figura 73 se puede observar una tabla con resultados obtenidos para cuatro casos, correspondientes al procesado de cuatro imágenes diferentes, en la cual se puede ver el tiempo computacional total empleando funciones de MATLAB directamente, así como el tiempo computacional total empleando C. Además, para observar el ratio de mejora de la implementación mediante archivos mex respecto a Matlab directamente:

$$\text{Ratio de mejora} = \frac{\text{Tiempo computacional archivo .m}}{\text{Tiempo computacional archivo .mex}} \quad (12)$$

| | Tiempo archivo .m (s) | Tiempo archivo .mex (s) | Ratio mejora |
|--------|-----------------------|-------------------------|--------------|
| Caso 1 | 434.3 | 4.5 | 96.5 |
| Caso 2 | 443.0 | 5.3 | 83.6 |
| Caso 3 | 211.5 | 3.3 | 64.1 |
| Caso 4 | 311.8 | 4.2 | 74.2 |

Figura 73. Mejora del tiempo de computación pasando de MATLAB a C.

4.2. Algoritmo de segmentación automática de la capa RNFL

4.2.1. Espesor RNFL, RNFLT (*Retinal Nerve Fiber Layer Thickness*)

Como se ha explicado en capítulos anteriores, el diagnóstico de la enfermedad llamada glaucoma depende de la segmentación de las imágenes OCT. Por tanto, éste es un paso importante en el desarrollo de este trabajo, ya que se va a extraer el espesor de la capa RNFL, que es el parámetro indispensable para el diagnóstico.

La manera de calcular la RNFLT (*Retinal Nerve Fiber Layer Thickness*) no podría realizarse directamente mediante la diferencia entre los puntos de la línea superior e inferior en dirección vertical, ya que no resulta ser la más rigurosa o correcta, tal y como se observa en la imagen izquierda de la Figura 74.



Figura 74. Cálculo correcto de la RNFLT.

Podría decirse que en el primer caso, imagen izquierda, no se tiene en cuenta la forma y trayectoria que siguen los límites de la capa, en cambio en el segundo método, imagen derecha, la forma de la capa afecta a la medida del espesor. Como se puede observar, tomando como referencia la línea superior, los puntos de esta línea deben compararse y calcular la diferencia con los puntos de la capa inferior que se encuentren a menor distancia de cada uno de ellos. Por tanto, para el cálculo del espesor de la RNFL, se debe proceder de la siguiente forma:

- En primer lugar se calcula, para todos los posibles valores del eje horizontal de la línea superior la mínima distancia a la línea inferior. Como se puede observar en la imagen derecha de la Figura 75, hay una zona cóncava en la línea inferior azul que, al calcular la mínima distancia desde los puntos superiores, no quedará representada en esta medida. Es decir el espesor en esa zona no será computado.



Figura 75. Izquierda: Cálculo de la mínima distancia de cada punto de la línea superior a la línea inferior. Derecha: Resultado de las distancias mínimas desde la línea superior a la inferior.

- En segundo lugar se calcula, para todos los posibles valores del eje horizontal de la línea inferior la mínima distancia a la línea superior. En este caso, la misma zona de la que se hablaba en la figura anterior, ya quedará representada en la medida.



Figura 76. Izquierda: Cálculo de la mínima distancia de cada punto de la línea inferior a la línea superior. Derecha: Resultado de las distancias mínimas desde la línea inferior a la superior.

- Finalmente, se realiza una media de ambos cálculos. Como se puede observar a continuación, el cálculo del espesor se realiza mediante las dos medidas empleadas en los dos puntos anteriores, de tal forma que de esta manera que los posibles huecos que puedan quedar en ambas medidas puedan ser contrarrestados por la otra.

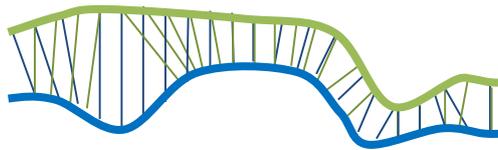


Figura 77. Cálculo del espesor empleando la mínima distancia desde la línea superior a la inferior y desde la línea inferior a la superior.

Una vez se ha obtenido para cada punto la distancia mínima al segmento, si se desea conocer la distancia media entre los dos segmentos, se realiza una media de las distancias calculadas previamente. Este es el caso para el cálculo del espesor RNFLT para representarlo en el diagrama de cuadrantes, se divide la imagen por cuadrantes: temporal, superior, nasal e inferior, y se calcula el espesor medio de la capa en cada una de las cuatro zonas, que posteriormente se representa en el gráfico circular (Figura 78).

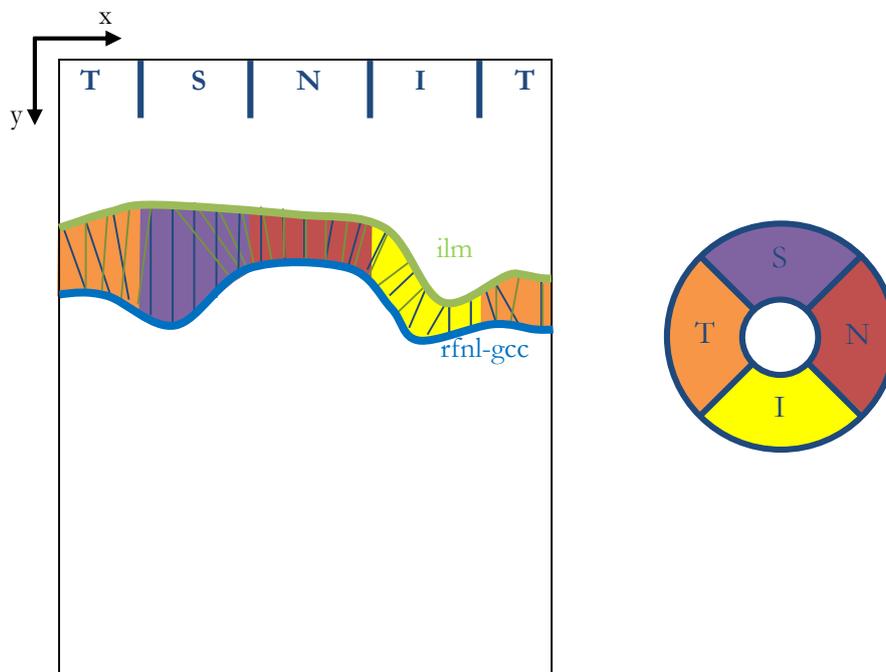


Figura 78. Cálculo del espesor de la capa RNFL y RNFLT representada en cuadrantes.

4.3. Informe

A continuación, se pasa a explicar la forma en la que se suele presentar la información al médico. Los equipos OCT generan un informe a partir de los datos y la información del ojo del paciente en cuestión obtenida mediante la técnica explicada que se basa en interferometría. Cada fabricante de equipos OCT genera un informe diferente, aunque realmente estas diferencias no suelen ser muy notables. Los informes suelen contener imágenes OCT, obtenidas siguiendo alguno de los posibles protocolos existentes de escaneo OCT, entre ellos los más comunes y prácticos son, el vertical, horizontal y circular. Estas imágenes también suelen presentarse en una escala de falso color y con una segmentación automática de las capas que se desean analizar, así como otro tipo de gráficas, diagramas de sectores, entre otras cosas, que más adelante se explican en detalle.

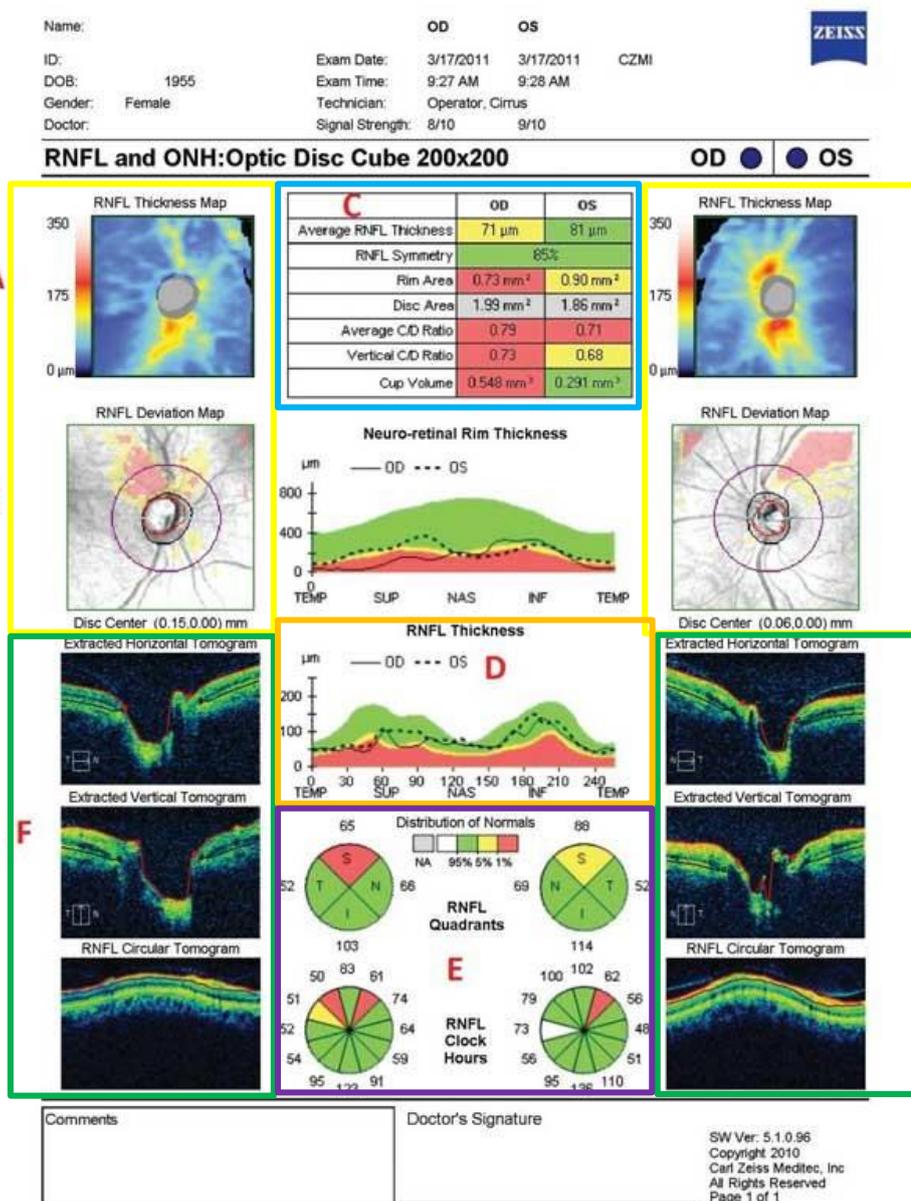


Figura 79. Glaucoma Report

Así pues, para observar más claramente toda esta información y la manera de la que suele estructurarse, se pone como ejemplo un informe extraído de un equipo de OCT del fabricante ZEISS, en el cual se puede ver la información tal cual la vería el médico que deberá diagnosticar al paciente y, por supuesto, se realiza una explicación de la manera en la que se obtiene estos resultados empleando los algoritmos y métodos propios de este proyecto. En la Figura 79 se ve el informe dividido por colores en las partes principales del mismo:

- RNFL Thickness Map: se trata de una imagen del espesor de la capa RNFL.
- Tomograms: en esta sección se pueden ver tres imágenes con la segmentación de la capa RNFL. Además, han sido extraídas mediante el escaneo horizontal, vertical y circular, respectivamente.
- RNFL Thickness: se trata de una gráfica normalizada por cada fabricante, mediante la toma de medidas de parte de la población. Esta gráfica es diferente para todos los equipos, ya que cada fabricante utiliza un cierto número de personas, de una determinada raza, edad, etc.
- RNFL Quadrants y RNFL Clock Hours: a partir de la gráfica *RNFL Thickness* obtenida por el fabricante, es muy común presentar los datos en forma de cuadrante, de manera que se pueda observar el estado del ojo dividido en las principales zonas: superior, nasal, inferior y temporal.
- Tabla resumen de resultados para cada ojo: en esta tabla se puede ver numéricamente los valores calculados por el equipo, como por ejemplo, espesor de la RNFL en media, la simetría de la RNFL, etc.

4.3.1. RNFL Thickness Map

Una de las imágenes del informe antes enumeradas es la *RNFL Thickness Map*. En esta imagen se puede observar el espesor de la capa RNFL en todos los puntos del escaneo cuadrado centrado en el disco. Esta información suele estar mapeada mediante una escala de colores, la cual se puede observar a la izquierda de la Figura 80.

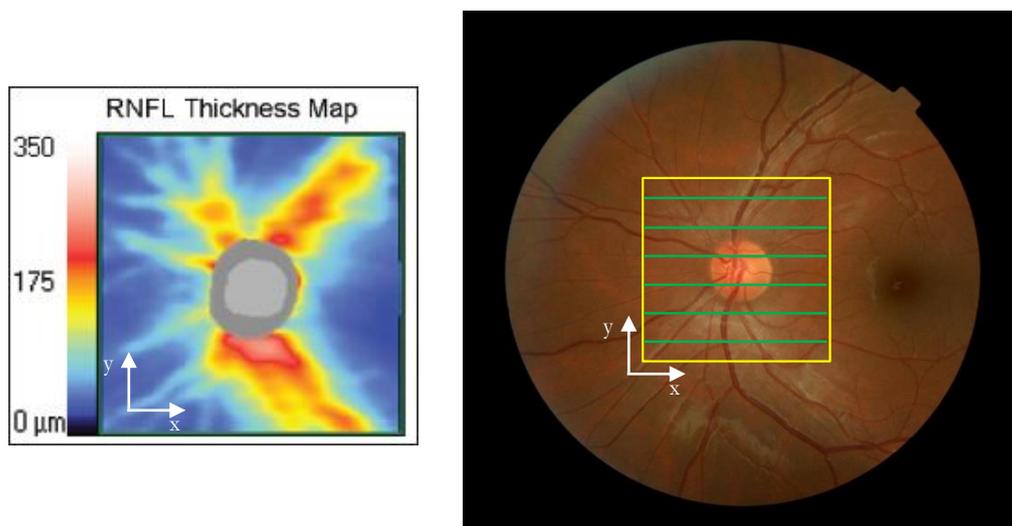


Figura 80. RNFL Thickness Map y Fondo de ojo con trayectoria de escaneo.

Tal y como se ha tratado de ilustrar en la Figura 81, esta imagen se obtiene mediante la información 3D del equipo OCT utilizando un protocolo de escaneo cuadrado, mediante un *raster* de líneas horizontales (líneas verdes en la Figura 80 derecha) que generan los diferentes *B-scans*.

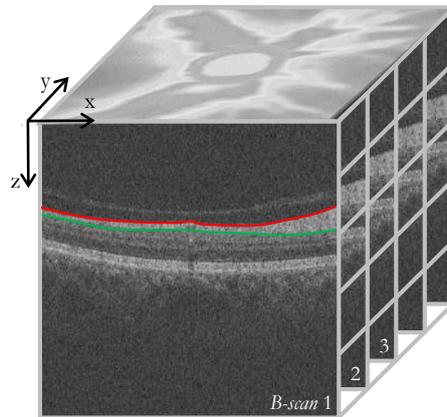


Figura 81. Información OCT 3D presentada en forma de cubo.

El eje z representa profundidad hacia dentro de la retina y en los ejes x e y , los puntos de esas líneas verdes donde se ha realizado cada *A-scan*. Por tanto, con varios puntos se genera la imagen *B-scan*, y mediante el algoritmo de segmentación adecuado se obtienen los bordes inferiores y superiores de la capa RNFL. Finalmente, teniendo las dos líneas correspondientes a los bordes, se puede calcular la diferencia entre ellas y, por tanto, el espesor de la capa que se representa mediante un código de colores, siendo más gruesa en las zonas con colores cálidos y más fina en las zonas con colores fríos, tal y como se observa en la Figura 80.

4.3.2. Tomograms

En el informe tomado de ejemplo, se puede ver tres tipos de tomografías: vertical, horizontal y circular. Como se observa en la Figura 82, la tomografía horizontal se obtiene mediante la imagen central del cuadrado anterior (todos los *A-scan* del *B-scan* central), el tomografía vertical tomando el pixel central de todas las imágenes que forman el cubo (todos los *A-scan* centrales de todos los *B-scan*) y el muestreo circular se explica a continuación en más detalle.

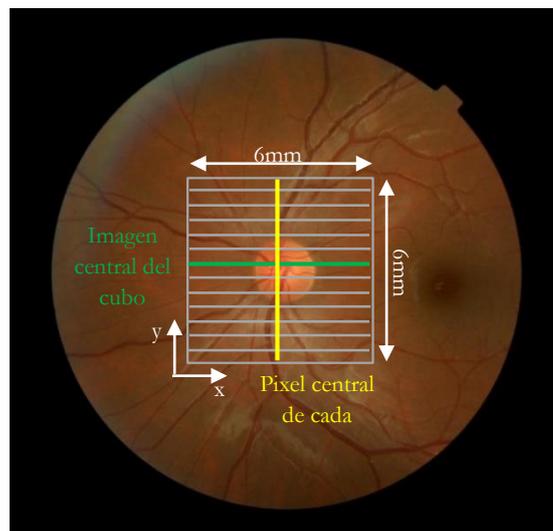


Figura 82. Escaneo lineal vertical y horizontal.

La tomografía circular, cuyo diámetro es de 3.6mm, se encuentra centrado en el disco óptico y se obtiene también a partir de los datos que se tiene en forma de cubo. Algunos equipos OCT realizan este tipo de escaneo de forma mecánica, pero en este caso se debe realizar el escaneo circular mediante código, como este caso. En la Figura 83 se ve la forma aproximada que tomaría el escaneo necesario para esta tomografía.

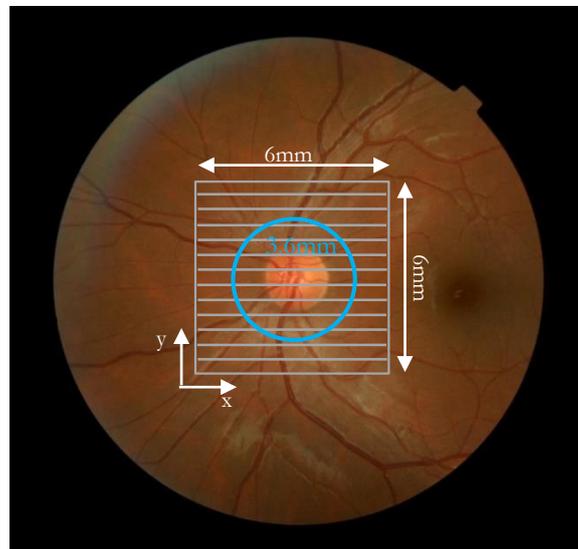


Figura 83. Escaneo circular.

Para el cálculo de esta trayectoria de muestreo circular, se prepara un script y una función en Matlab. Lo más común en los equipos OCT es obtener un muestreo circular en 256 puntos (siendo físicamente una circunferencia de diámetro 3.6mm), pero no todos los dispositivos funcionan de esta manera así pues, también se prepara el programa para el cálculo de la tomografía circular con un número diferente de muestras, tanto par como impar.

Como se conoce el radio de la circunferencia, se realiza el cálculo de los puntos de la semicircunferencia superior en primer lugar mediante el seno y el coseno, Figura 84.

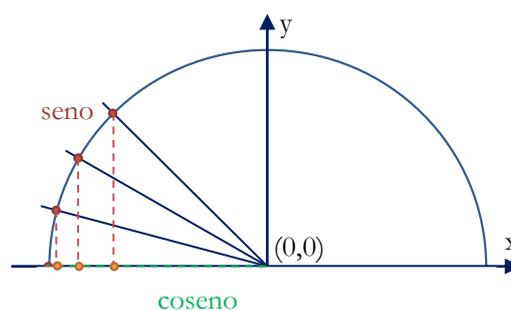


Figura 84. Cálculo coordenadas x e y de la semicircunferencia superior.

El siguiente paso consiste en el cálculo de los puntos para la semicircunferencia inferior, Figura 85.

Se debe tener en cuenta el número de puntos en el que se quiere dividir la circunferencia, ya que el resultado difiere si se trata de un número par o un número impar.

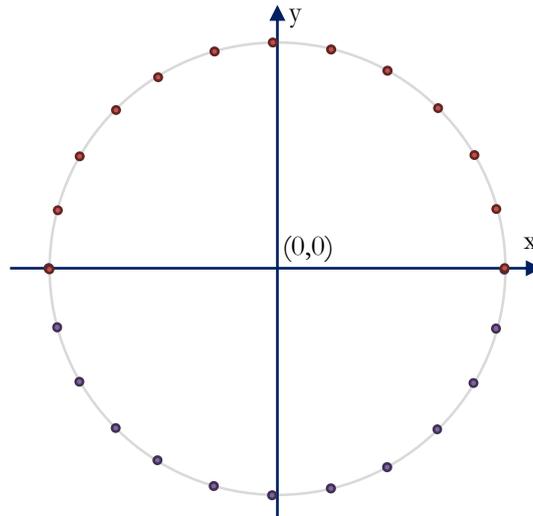


Figura 85. Cálculo de coordenadas x e y de la semicircunferencia inferior.

En el caso de tener un número par, tal y como se muestra en la Figura 86, al realizar la inversión de la semicircunferencia inferior para obtener la superior, se obtendría un punto duplicado en el extremo izquierdo y un hueco en el derecho. Así pues, la solución resulta sencilla, eliminando en el punto del extremo izquierdo e introduciendo uno en la misma posición (en el eje y) pero en el extremo derecho.

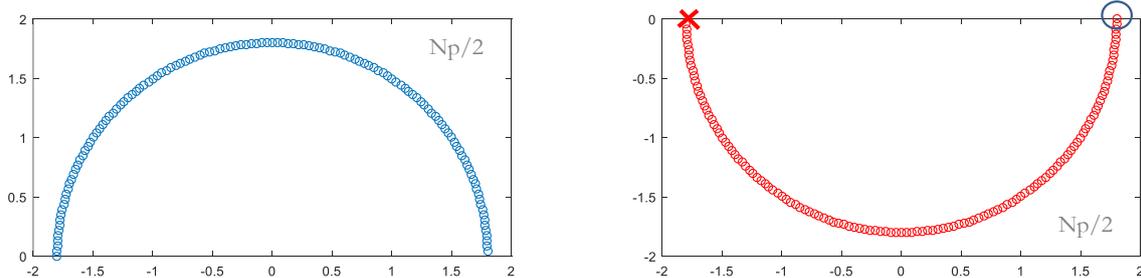


Figura 86. Si el número de puntos que forman la circunferencia es par, se elimina el punto del extremo izquierdo de la semicircunferencia inferior y se añade en el extremo derecho.

En el caso de ser impar el número de puntos, quedaría un hueco en el extremo derecho y se añade un punto en este lugar de valor cero en el eje y , Figura 87.

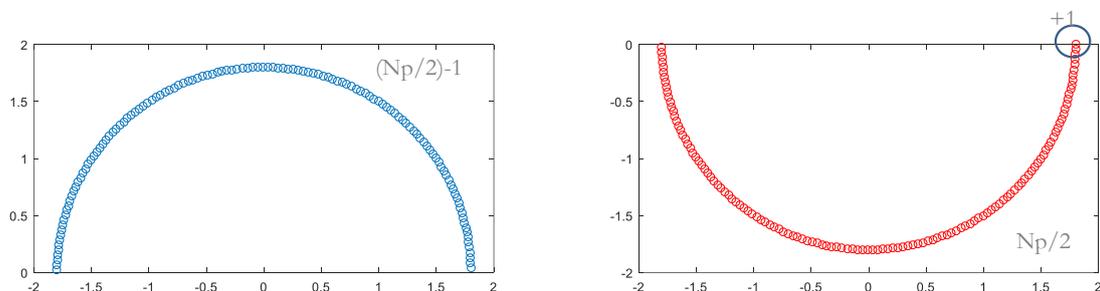


Figura 87. Si el número de puntos que forman la circunferencia es impar, se añade un punto en el extremo derecho de la semicircunferencia inferior.

Hasta este momento se ha obtenido una circunferencia con un número determinado de puntos, de radio 1 y centrada en cero. A continuación, la circunferencia se desplaza hasta el punto central del

cuadrado de muestreo (6mm x 6mm) y además se realiza un escalado y redondeo de las coordenadas x e y .

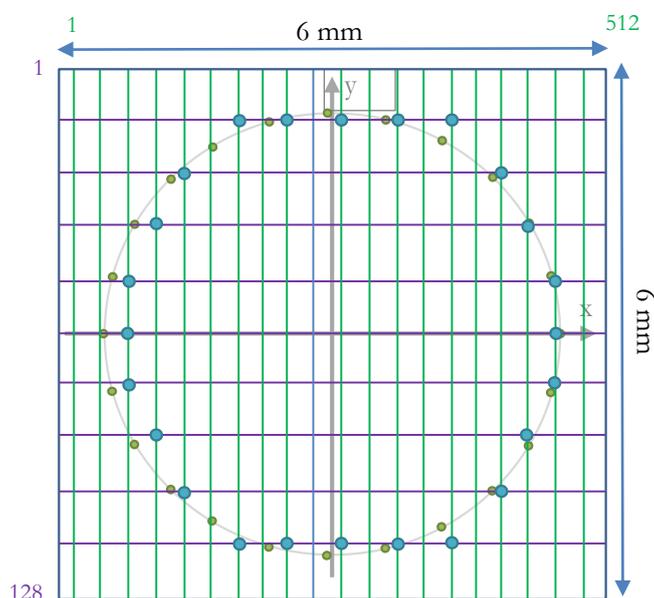


Figura 88. Desplazamiento de la circunferencia al centro del cubo, escalado y redondeo.

Como se observa en la Figura 88, el cuadrado de muestreo tiene un tamaño de 6 x 6 mm, así pues se desplaza hasta que el centro se encuentra situado en el punto con coordenadas 3mm, 3mm. Además, el cubo en términos de muestras o pixels, no tiene la misma frecuencia de muestreo en espacio, sino que en el eje x se tiene 512 posibles valores y, en cambio, en el eje y se tiene 128. Los puntos de la circunferencia deben coincidir con estos posibles valores de las imágenes reales, aunque la circunferencia no tenga un aspecto perfectamente circular, con tal de obtener los índices de valores enteros (de pixels o imágenes) para más tarde realizar el procesamiento. Nótese que el cubo está formado por 128 imágenes o *B-scan*, que a su vez están formadas por 512 pixels de anchura, los índices y y x deben encontrarse entre esos posibles valores, respectivamente.

Así pues, como resultado y en el caso de muestrear con 256 puntos, se obtiene un conjunto del mismo número de *A-scan* que se concatenan con tal de formar una imagen o *B-scan* correspondiente a esta trayectoria circular.

4.3.3. RNFL Thickness y representación en cuadrantes

Con el fin de comparar medidas del espesor de la retina con valores normalizados, cada fabricante define una base de datos normalizada usando sus propios instrumentos OCT. Estos resultados sugieren que los estudios comparando medidas OCT deben ser debidamente controlados basándose variaciones de edad, etnia y género. Además, la gran variabilidad que existe entre los diferentes instrumentos de OCT puede provocar diferencias estadísticamente significativas en el espesor de la retina y esto hace que las medidas de espesor de RNFL obtenidas con diferentes dispositivos SD-OCT no sean completamente compatibles y no deben emplearse como intercambiables.

Pese a que los fabricantes cuenten con valores ligeramente diferentes con respecto al espesor de la RNFL, las medidas siempre son tomadas de la misma manera: con muestreo circular alrededor del disco óptico de diámetro 3.6mm y son representadas como en la Figura 89.

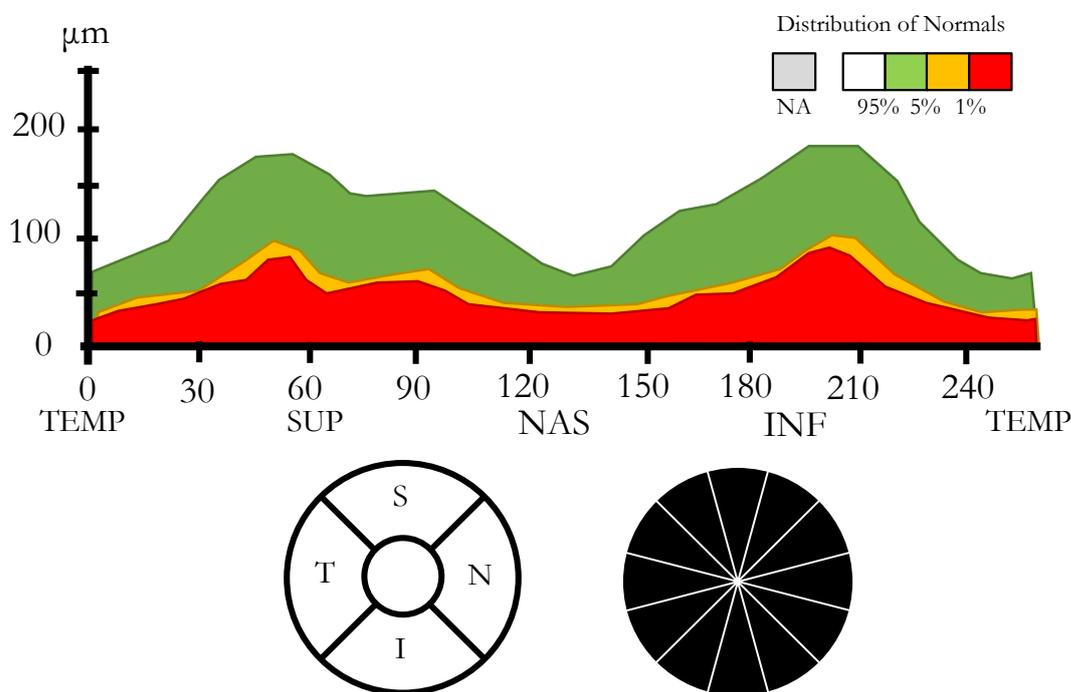


Figura 89. Curvas del fabricante. RNFL Thickness.

Como se puede observar, las gráficas dadas por los fabricantes están formadas por diferentes zonas identificadas por colores: verde, amarillo y rojo. Éstas son obtenidas, como ya se ha dicho, tomando medidas de la capa RNFL de cierta población, de forma que se obtiene la distribución normal del espesor de la misma para esta población y se genera una gráfica con zonas en las cuales se engloban el 95%, el 5% o el 1% de las medidas, respectivamente. Así pues, si la línea que indica el espesor de la RNFL del paciente se encuentra en la zona verde está “dentro del límite normal” (dentro de 5-95% de la distribución normal), si se encuentra en la zona amarilla está “en el límite” (entre el 1-5% de la distribución normal) y por último si se encuentra en la zona roja está “fuera de los límites” (dentro del 0-1% de la distribución normal).

En esta gráfica del espesor de la RNFL se encuentran en el eje de abscisas todos los puntos del recorrido circular donde se han tomado medidas de espesor, tanto en grados (de 0 a 360°) en número de puntos (de 0 a 255) y en el eje de ordenadas el espesor de la capa para cada punto en micras (μm). En este caso, la gráfica está representada empleando en el eje de abscisas el número de puntos con el que se ha obtenido el muestreo circular, 256 es el número más común de puntos o *A-scan*. En ella, como se verá en el Capítulo 5, se representa una línea negra correspondiente a las medidas tomadas en el ojo del paciente, de manera que se puedan comparar con la gráfica almacenada por el dispositivo. Pero no únicamente existe esta representación, otras dos formas de presentar los resultados obtenidos de la RNFL son: la representación en cuadrantes o en 12 sectores, lo llamado RNFL Clock Hours. En ambas representaciones se puede observar un círculo dividido en cuadrantes: Temporal, superior, Nasal e Inferior y en ella un número indicando el espesor medio de la capa RNFL en esa zona.

Capítulo 5

Resultados

Para obtener todos estos resultados se parte de diferentes bases de datos que contienen la información de los *B-scan*. La base de datos propia del proyecto de investigación cuenta con la información organizada en cubos de datos de las siguientes dimensiones:

- 512 *A-scan* x 128 *B-scan* lineales, es decir 128 imágenes de 512 pixels de anchura
- 6mm x 6mm

Como se puede observar en la realidad se tiene información del ojo en forma de cubo, pero la frecuencia de muestreo espacial no es la misma.

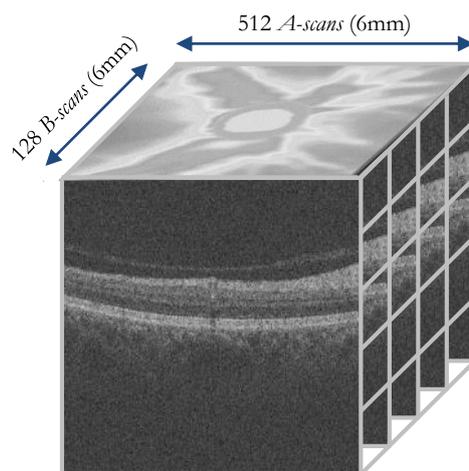


Figura 90. Dimensiones del cubo OCT.

En primer lugar se observan las imágenes o tomografías que se extraen de las bases de datos, así como los resultados de la segmentación propiamente dicha. A continuación los resultados obtenidos en el trabajo se pasan a exponer de forma ordenada y similar al informe completo que suele

proporcionar este tipo de dispositivos. Tal y como ha quedado explicado en el Capítulo 4, donde se explicaba el procedimiento para la correcta extracción de todos los resultados, estos mismos se ordenan de la siguiente manera:

1. tomografías: vertical, horizontal y circular.
2. Segmentación: manual y automática.
3. *RNFL Thickness*

5.1. Tomografías

En este apartado se toma como ejemplo dos cubos de imágenes, una de ellas centrada en el disco y la otra en la mácula. Esta información se encuentra en la base de datos del proyecto y por tanto ha sido tomada mediante el dispositivo 3D OCT-23000 de Topcon [21].

A continuación, como ya se ha explicado en anteriores capítulos, se muestra como ejemplo dos imágenes obtenidas del cubo de la base de datos con recorrido lineal vertical.

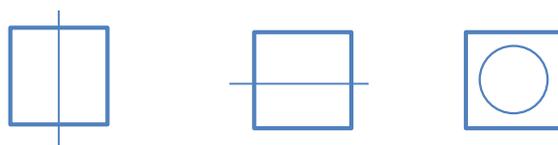


Figura 91. Esquema que muestra la tomografía vertical, horizontal y circular, respectivamente.

5.1.1. Vertical

Como se puede ver en la Figura 92, para extraer la tomografía en línea vertical únicamente se obtiene una imagen de 128 pixels de ancho, que resulta un poco estrecha. Así que se interpola por cuatro con el fin de mejorar la visualización.

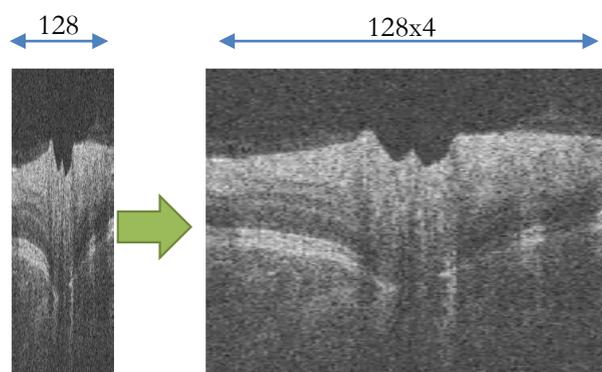


Figura 92. Interpolado del tomografía vertical.

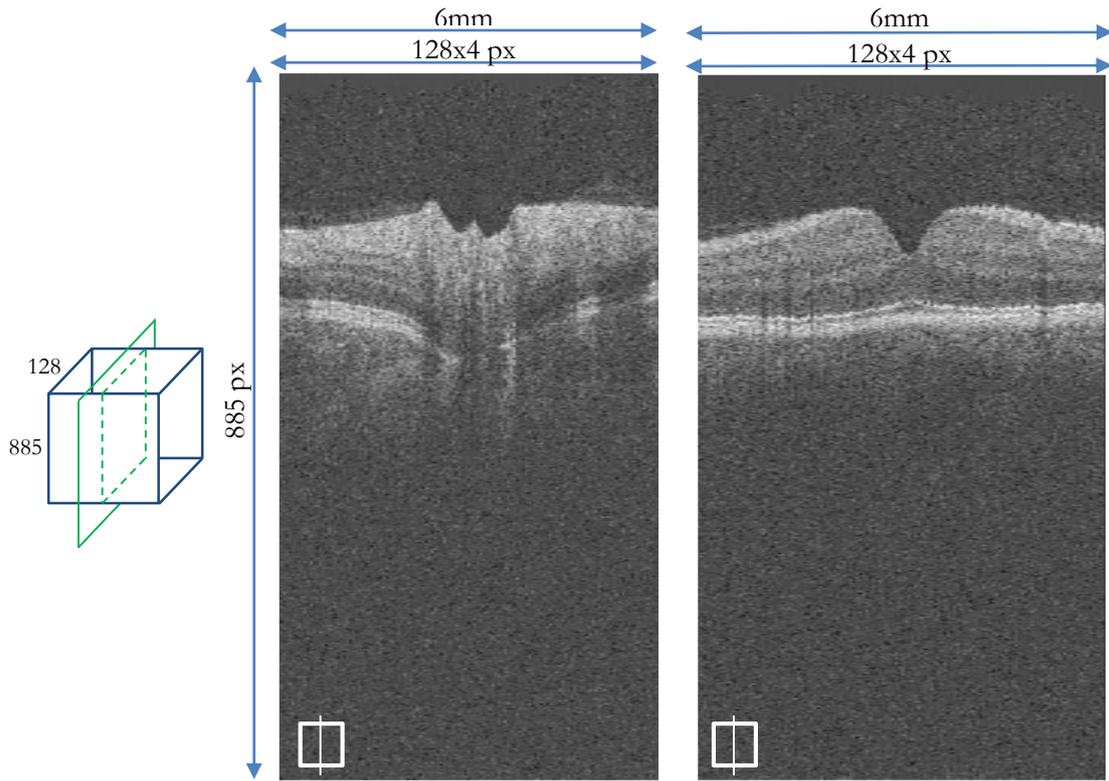


Figura 93. Ejemplo de tomografía vertical de OCT centrado en disco (izquierda) y OCT centrado en mácula (derecha).

5.1.2. Horizontal

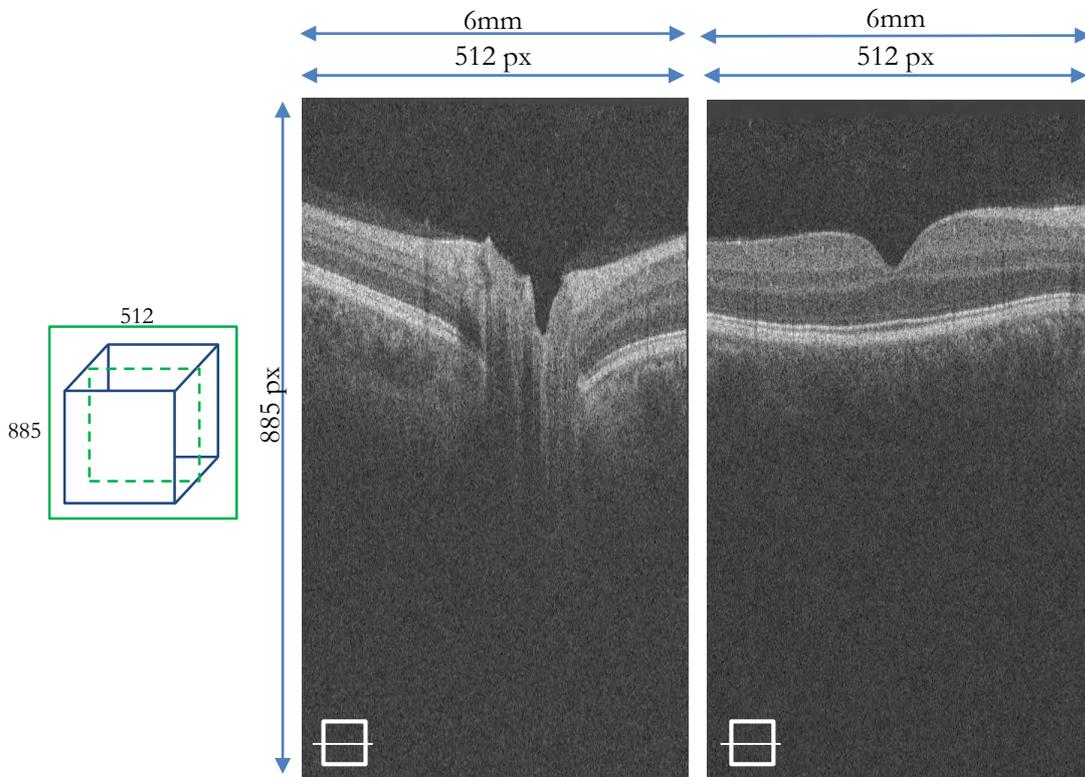


Figura 94. Ejemplo de tomografía horizontal de OCT centrado en disco (izquierda) y OCT centrado en mácula (derecha).

5.1.3. Circular

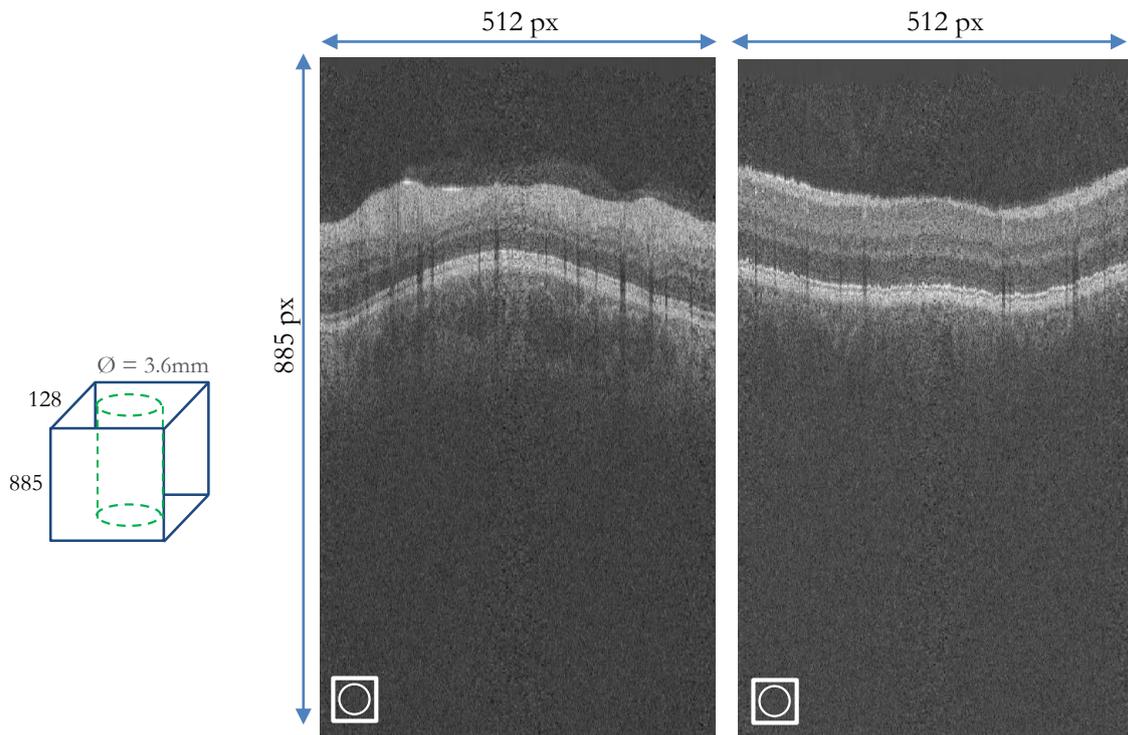


Figura 95. Ejemplo de tomografía circular de OCT centrado en disco (izquierda) y OCT centrado en mácula (derecha).

5.2. Segmentación

5.2.1. Segmentación manual

Para el conocimiento de la dificultad que supone la correcta segmentación de las capas de la retina, incluso manualmente, se procede a segmentar dos ejemplos manualmente. De esta manera, una vez esta segmentación manual es aceptada como correcta por un especialista en la materia, se puede emplear como punto de partida de las pruebas posteriores.

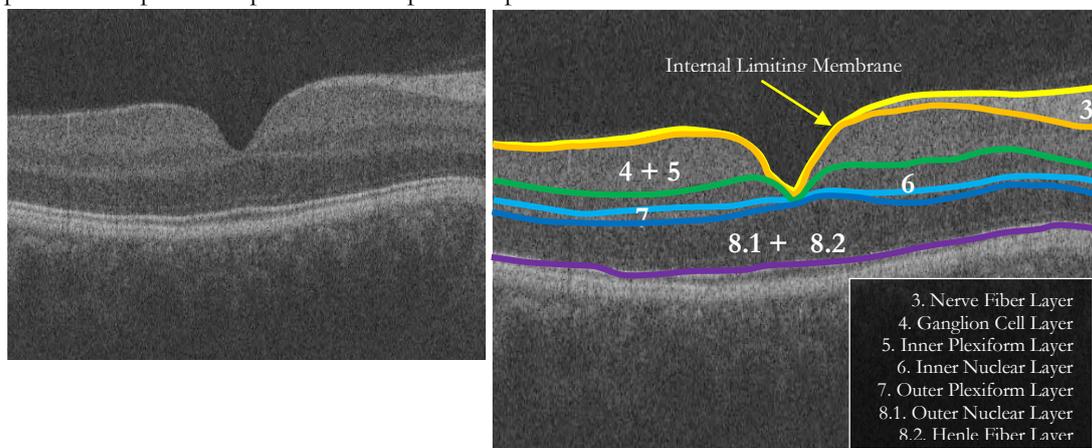


Figura 96. Segmentación manual de un ejemplo de imagen OCT centrada en la mácula. Tomografía horizontal.

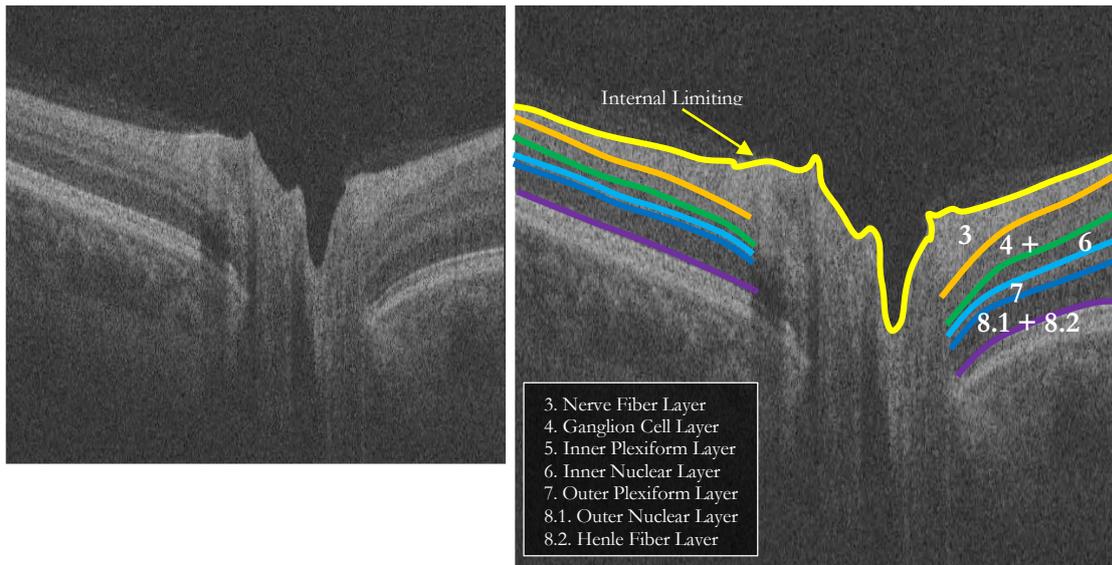


Figura 97. Segmentación manual de un ejemplo de imagen OCT centrada en la disco óptico o papila. Tomografía horizontal.

5.2.2. Segmentación minimal path

Como ya se ha explicado, mediante este algoritmo no se obtiene la segmentación de la capa RNFL, sino una aproximación de la localización y trayectoria de la misma, como se observa en la Figura 98.

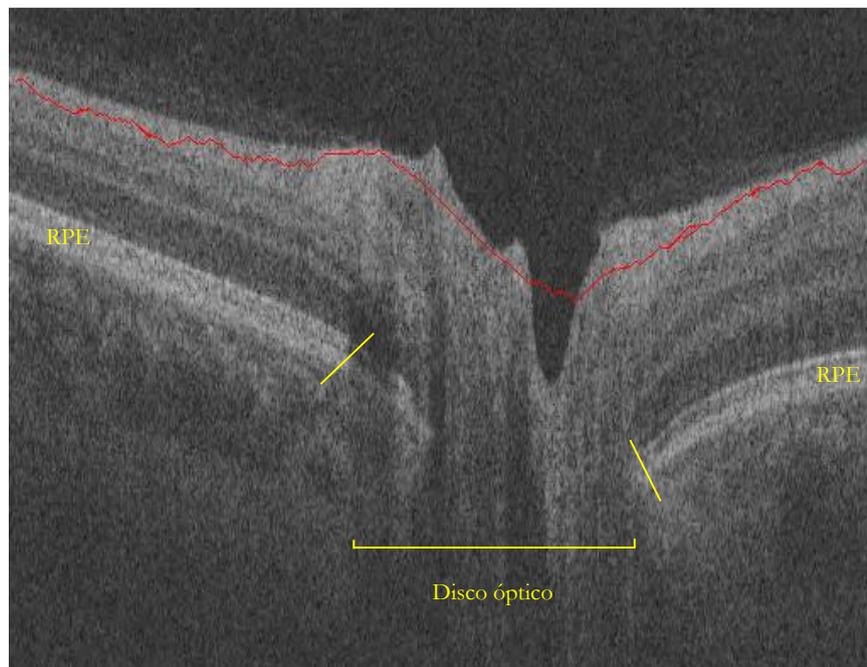


Figura 98. Localización aproximada de la capa RNFL, mediante minimal path.

Las imágenes de disco óptico, en los *B-scan* de trayectoria vertical u horizontal en los que esté presente el disco óptico, pueden ser procesadas directamente con *minimal path* y localizar en primer lugar la capa RNFL, esto no ocurre en las imágenes maculares o imágenes en las que no está presente

el disco. El disco óptico, se puede observar en estas imágenes como una gran sombra, en el cual es imposible localizar ninguna capa, ya que realmente no están presentes. El disco óptico está formado por tipo de tejido y estructura no compuesto por capas. Por este motivo el algoritmo localiza en primer lugar la RNFL, ya que como se puede observar la capa RPE, se encuentra totalmente dividida por esta sombra. Además, a pesar de esto y del ruido de la imagen la RNFL en esa zona de sombra, el algoritmo encuentra correctamente la trayectoria que sigue la capa en las dos zonas de los laterales (donde no está presente el disco).

Como ya se ha explicado en el Capítulo 4, se puede observar como la segunda capa más brillante de estas imágenes suele ser la capa RNFL y la más brillante la zona RPE+*Ellipsoid*, por tanto la primera en ser detectada por el algoritmo. Así pues, se trata de, una vez localizada la zona RPE eliminarla de la imagen mediante la dilatación, con el fin de conseguir que la capa más brillante sea la RNFL y pueda segmentarse correctamente. Se vuelve a aplicar en algoritmo, y ahora al ser la RNFL la capa más brillante, sí que se obtiene el resultado deseado. Cabe destacar el hecho de que esto ocurre en imágenes donde no se encuentra la sombra procedente del disco óptico, es decir en el caso del tomografía circular e imágenes centradas en la mácula.

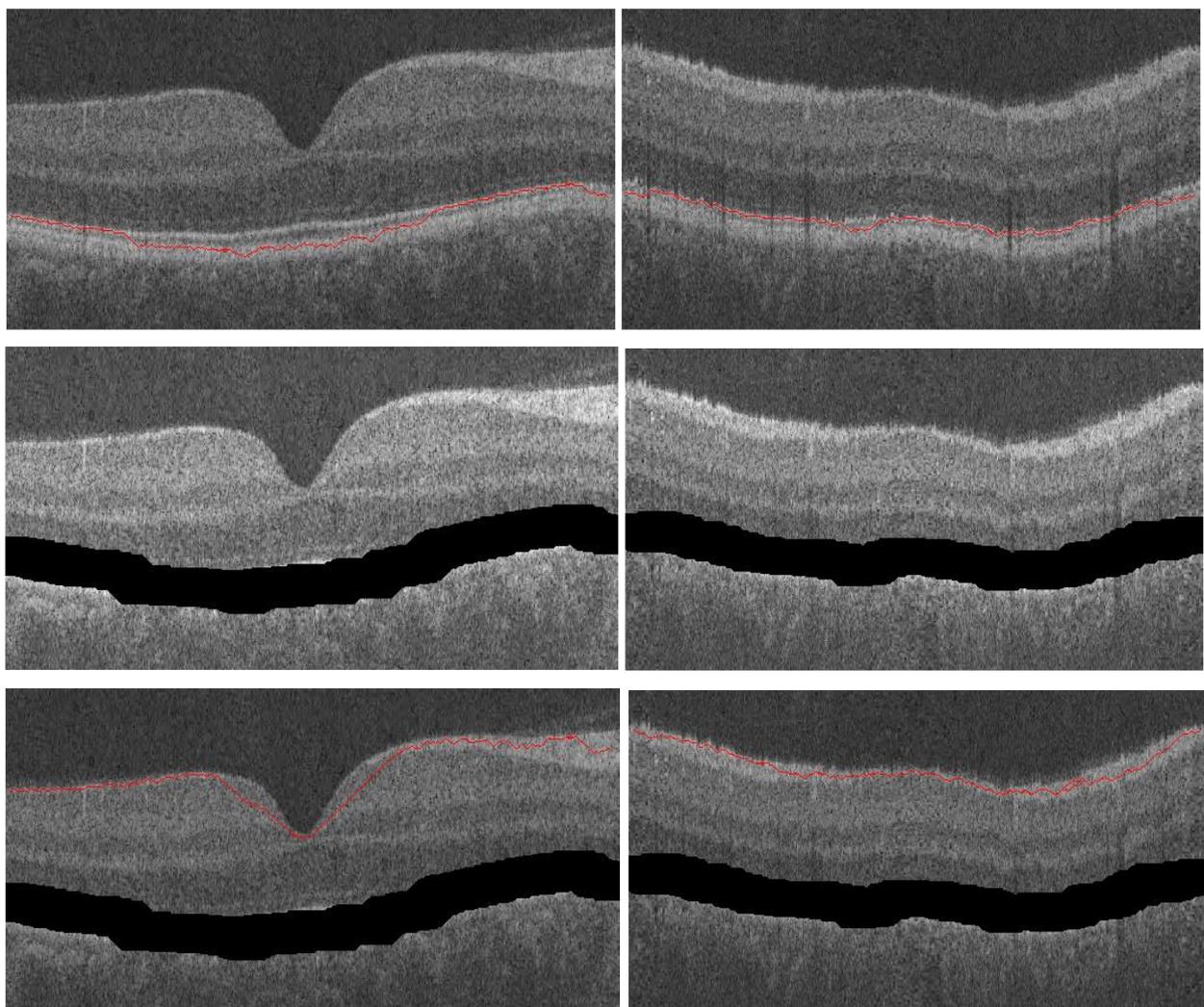


Figura 99. Obtención de la capa RNFL eliminando primero la zona RPE. Izquierda: imagen centrada en la mácula. Derecha: tomografía circular centrado en mácula.

5.2.3. Segmentación automática de siete capas de la retina en SDOCT

Este algoritmo, como ya se ha explicado en capítulos anteriores se trata de un algoritmo destinado a imágenes centradas en la mácula y segmenta 7 capas de la retina, tal y como se puede ver en la imagen de la Figura 100. Se trata de un algoritmo bastante robusto en este tipo de imágenes, que segmenta correctamente la mayoría de imágenes maculares, en cambio en la zona de disco, suele tener más problemas, como se explica a continuación.

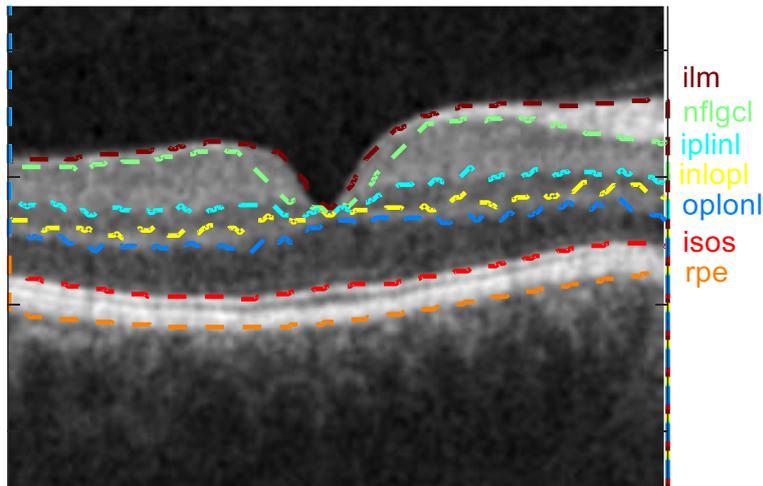


Figura 100. Ejemplo del resultado del algoritmo de Chiu, para una imagen macular.

Debido a la sombra que produce el nervio óptico, como se ha explicado anteriormente, el algoritmo no es capaz de segmentar correctamente las capas:

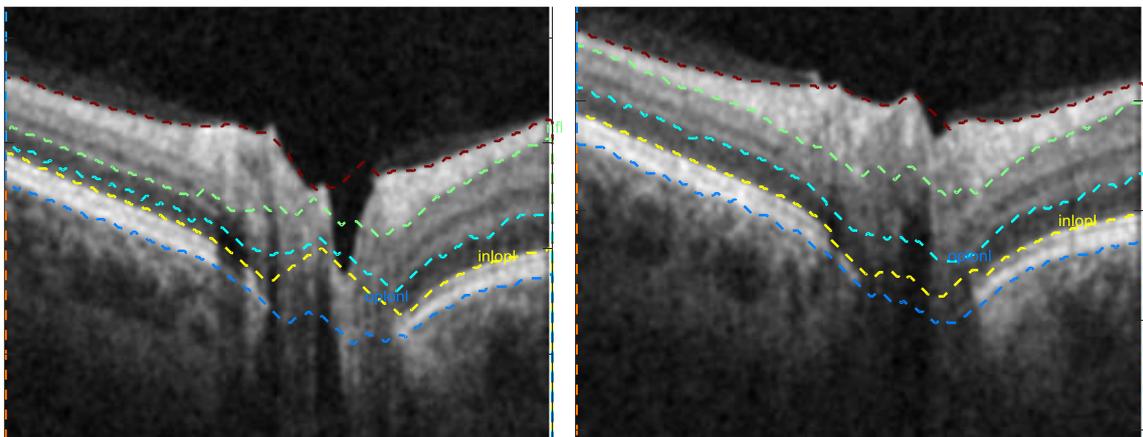


Figura 101. Ejemplos de segmentación de dos imágenes OCT, en las cuales se observa la presencia del nervio óptico.

En la Figura 102 se observa la segmentación de una imagen, que en el siguiente apartado se emplea como ejemplo de los resultados, que daría un informe generado por un equipo OCT, se puede ver como en este caso la segmentación no da un buen resultado. De nuevo, esto es debido a la presencia del disco óptico que se puede ver en las imágenes como una gran sombra que separa en dos partes las

capas de la retina. Este problema, como se ve en el siguiente apartado, se resuelve procesando por separado ambas partes.

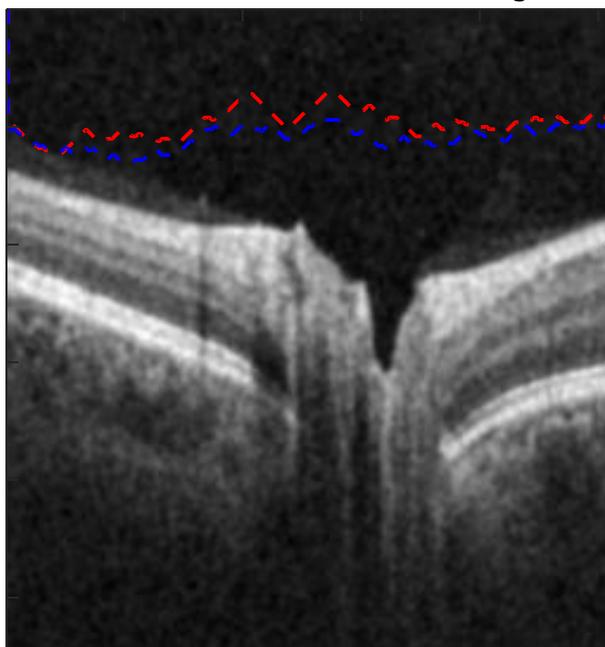


Figura 102. Segmentación zona central del disco óptico errónea. *ilm* y *rnfl-gcl*.

Finalmente, resulta importante decir que esta circunstancia no supone un problema para el cálculo del espesor de RNFL de trayectoria circular, puesto que esta trayectoria transcurre alrededor del nervio óptico pero no lo incluye, tal y como se muestra en la siguiente figura:

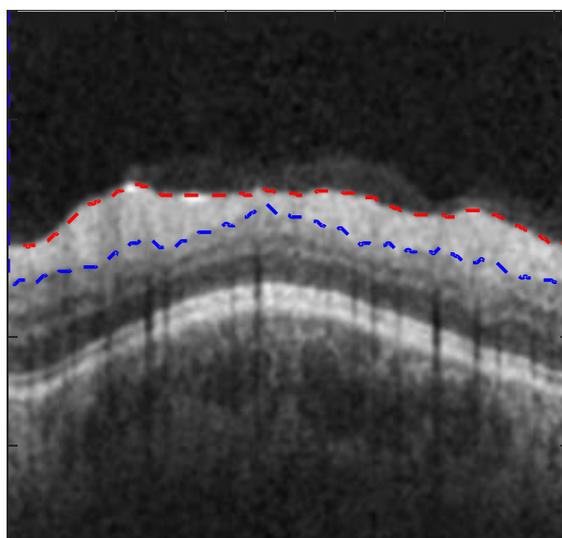


Figura 103. Segmentación correcta de la RNFL, cuando se trata de la tomografía circular. *ilm* y *rnfl-gcl*.

5.3. Informe final

A continuación se presenta lo que sería un informe final que generaría el equipo OCT, empleando los únicos datos disponibles de OCT centrada en el disco óptico.

- Tomograms: en esta sección se pueden ver tres imágenes con la segmentación de la capa RNFL. Como se ha visto en el apartado anterior, en la Figura 102, el algoritmo no segmenta correctamente las capas debido a la presencia del disco óptico, así que se divide en dos partes la imagen con el fin de obtener un mejor resultado.

○ HORIZONTAL:

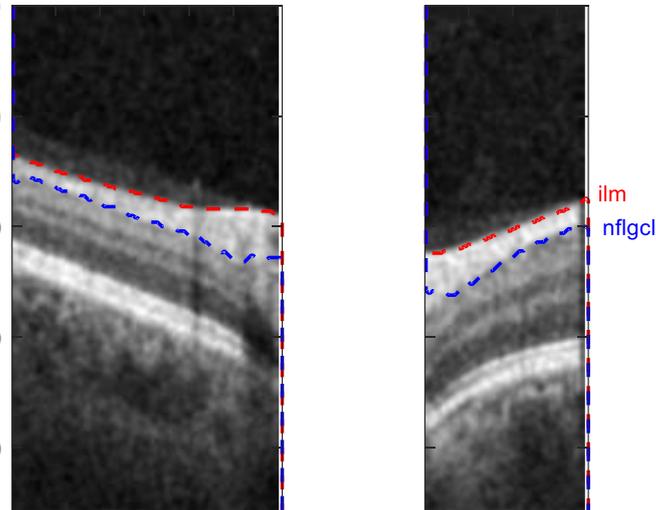


Figura 104. Segmentación tomografía horizontal, dividiendo en dos la imagen.

A continuación se puede ver cómo quedaría el resultado aplicando el algoritmo de segmentación a los dos fragmentos de la imagen anteriores.

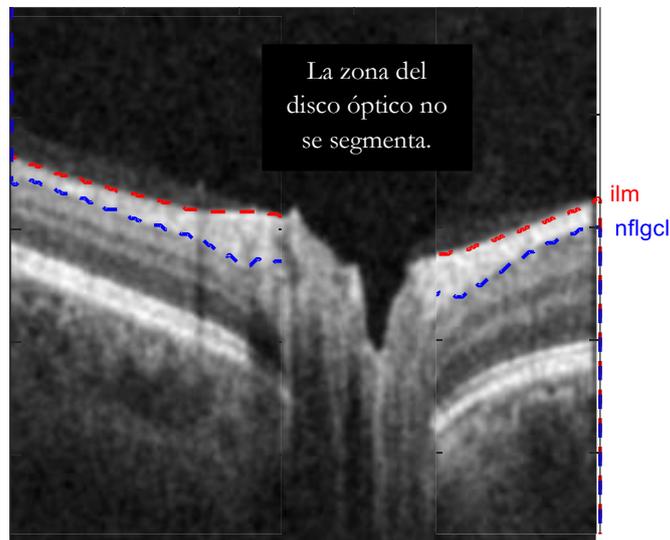


Figura 105. Segmentación imagen , tomografía horizontal, centrada en disco óptico.

○ VERTICAL:

De igual manera se realiza para la tomografía de recorrido vertical, y que también se encuentra presente el nervio óptico en las imágenes. Así pues, en primer lugar, se divide en dos imágenes que el algoritmo sea capaz de segmentar y a continuación se presenta el resultado total de las imágenes.

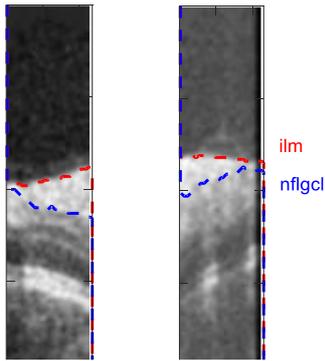


Figura 106. Segmentación tomografía vertical, dividiendo en dos la imagen.

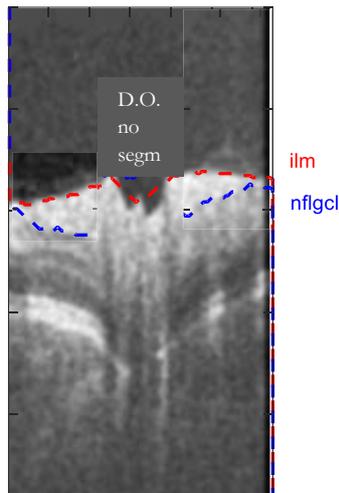


Figura 107. Segmentación imagen , tomografía vertical, centrada en disco óptico

○ CIRCULAR:

Como ya se ha dicho, el disco óptico no supone un problema en esta imagen, ya que no se encuentra presente, y no es necesario hacer el paso previo de subdividir la imagen en dos más sencillas. Este resultado es importante, ya que es la imagen de la que se obtiene el espesor de la RNFL que servirá para diagnosticar la enfermedad.

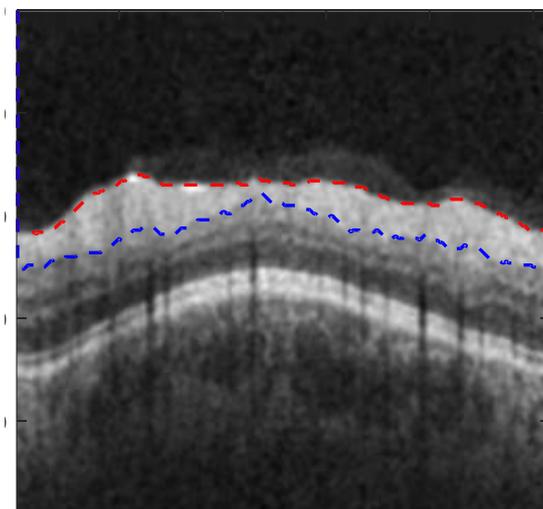


Figura 108. Tomografía circular con RNFL segmentada correctamente. *ilm* y *nfl-gcl*.

- RNFL Thickness Map: se trata de una imagen del espesor de la capa RNFL. Como se ha explicado en el Capítulo 4, estas imágenes se consiguen midiendo para todos los *B-scan* que forman el cubo el espesor de la RNFL en todos los puntos. Esto, se representa en una imagen en falso color, como se puede ver en la Figura 109. Además, es muy común presentar la imagen de fondo de ojo, en la cual se ven todos los vasos sanguíneos así como el disco óptico, con el fin de dar más sentido y facilidad de interpretación al resultado.

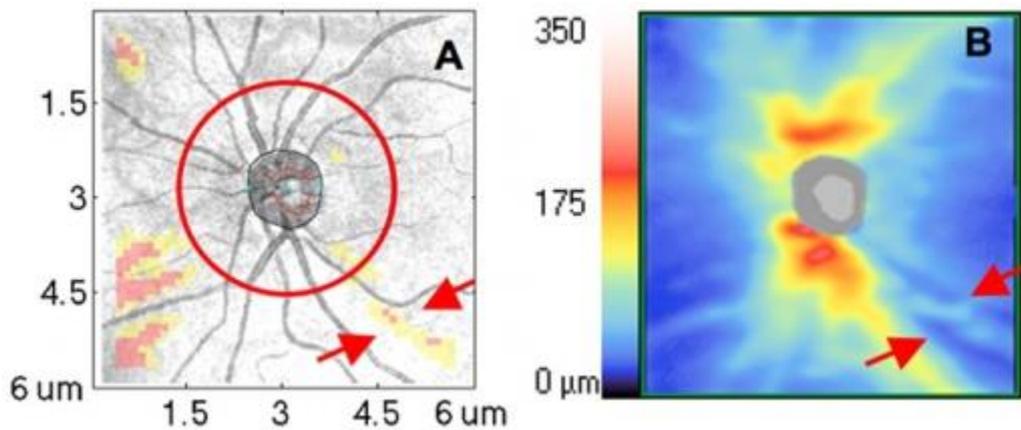


Figura 109. RNFLT Map, Fondo de ojo y suma de ambas.

- RNFL Thickness: el espesor de la capa RNFL de la imagen obtenida mediante un escaneo circular, puede representarse de la manera que se observa en la Figura 110. Para generar el *B-scan* circular, como ya se ha explicado anteriormente, suelen tomarse 256 muestras a lo largo de los 360° de la circunferencia de diámetro 3.6mm. De cada punto del *B-scan* se toma la medida del espesor de la capa en cuestión y se representa mediante un gráfico 2D.

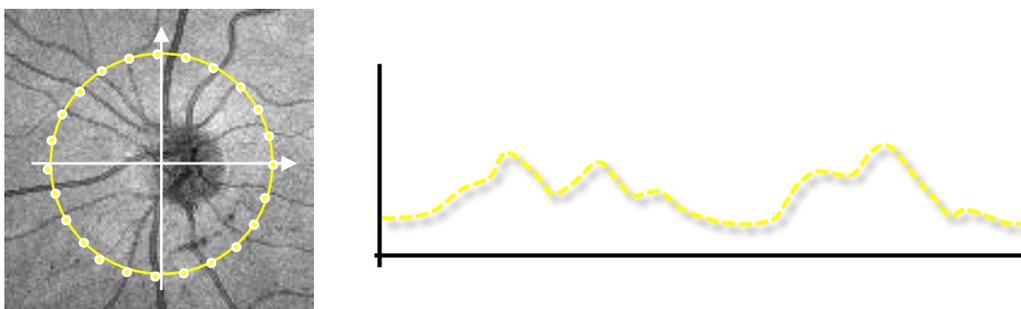


Figura 110. RNFL Thickness.

A continuación, en la Figura 111, se representan dos ejemplos de medidas de los ojos izquierdos de dos pacientes diferentes. Como se puede ver en la imagen superior, las medidas de espesor de la RNFL permanecen casi en todo momento en la zona verde o blanca, por tanto el médico seguramente clasificaría como sano el ojo. En cambio, en la imagen inferior se puede ver como este paciente probablemente padezca algún tipo de enfermedad oftalmológica, ya que la línea se encuentra en muchos puntos en la parte amarilla o incluso roja, lo que significa que está fuera de los límites de la distribución normal del espesor de la RNFL de la base de datos del fabricante.

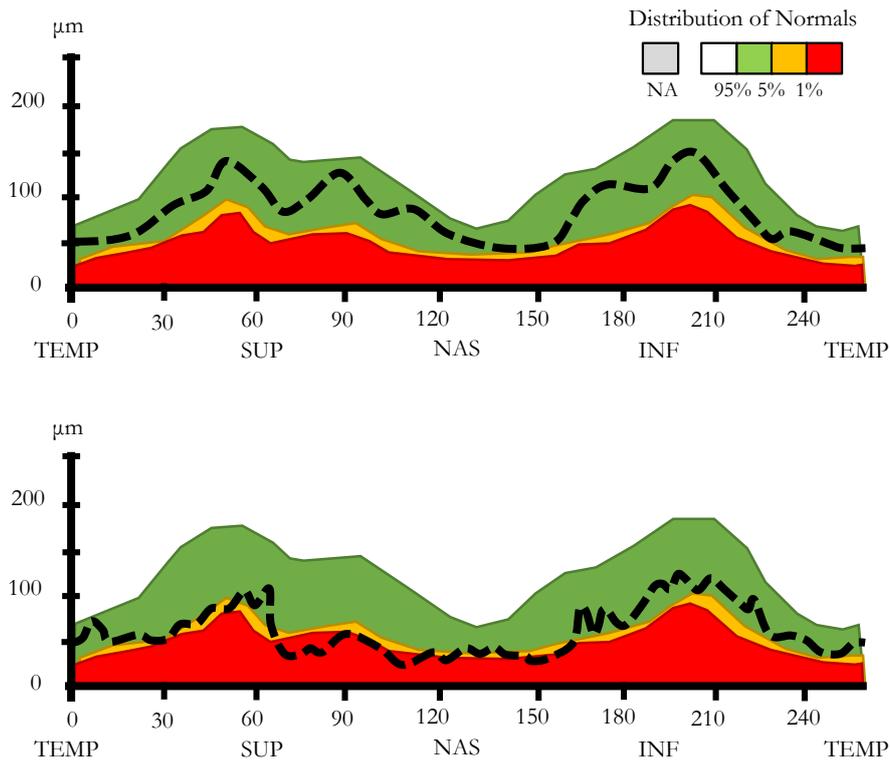


Figura 111. RNFL Thickness. Superior: ojo izquierdo sano. Inferior: ojo izquierdo probablemente enfermo.

- RNFL Quadrants y RNFL Clock Hours: a partir de la gráfica RNFL Thickness obtenida por el fabricante, es muy común presentar los datos en forma de cuadrante, de manera que se pueda observar el estado del ojo dividido en las principales zonas: superior, nasal, inferior y temporal.

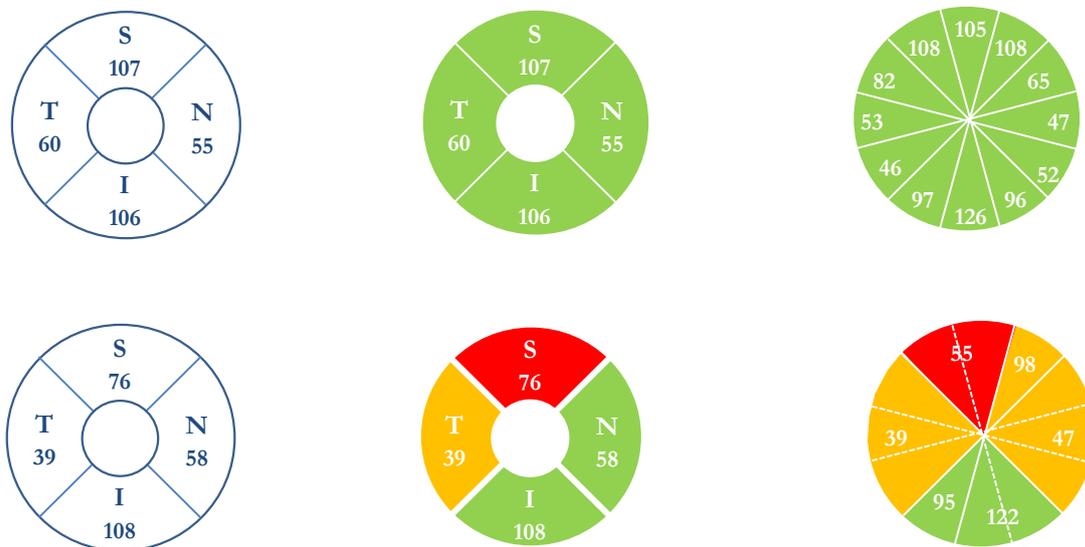


Figura 112. Resultado RNFL Quadrants.

Como se puede observar en la Figura 112, los diagramas de cuadrantes relativos a la imagen superior de la Figura 111 indican que el ojo está sano, ya que se ve como el color verde se extiende a lo largo de todo el círculo. En cuanto a la imagen inferior de la misma figura se trata de información de una paciente de 39 años que padece una enfermedad ocular diferente al glaucoma, aunque los resultados

sirven para explicar cómo entender estos gráficos, y se puede observar una reducción global del de RNFL, así pues el ojo puede decirse que está fuera de los límites normales.

Capítulo 6

Conclusiones y líneas futuras

Para finalizar este Trabajo Final de Máster (TFM), a continuación se exponen las conclusiones obtenidas del trabajo realizado y las posibles soluciones e ideas planteadas para un futuro.

6.1. Conclusiones

Como ya se ha explicado a lo largo del trabajo, éste forma parte de un proyecto mucho mayor a nivel Europeo. Como actualmente éste se encuentra en sus primeras fases de desarrollo, no se ha podido contar con todas las imágenes que se desearía, teniendo más datos obtenidos con el dispositivo centrado en la zona macular que en la zona del disco. De momento en la base de datos del mismo se ha podido encontrar una colección mayor de imágenes centradas en la mácula, ya que en cierto modo los equipos de investigación suelen centrar su trabajo más en esta zona, ya que en ella pueden ser diagnosticadas más enfermedades. En contraposición, como se ha repetido a lo largo del desarrollo trabajo, este proyecto se centra en la enfermedad llamada glaucoma para la cual resulta indispensable el diagnóstico mediante imágenes OCT centradas en el disco óptico. Tecnológicamente, las pruebas mediante imágenes maculares son igualmente válidas, ya que principalmente se trata de obtener una correcta segmentación de la capa RNFL y esto en la zona macular puede ser perfectamente comprobado.

En cuanto a la segmentación en sí, cabe comentar la gran dificultad que supone el tratamiento de este tipo de imágenes en las cuales la presencia de ruido y cuerpos extraños, como sombras, vasos sanguíneos, movimiento, etc. está muy presente. Las imágenes OCT, como ya se ha comentado dependen mucho del dispositivo con el que se hayan tomado, tanto de la tecnología empleada: tecnología TDOCT o SDOCT, como el fabricante, dentro de la misma tecnología, ya que puede suponer que haya diferencias significativas entre las medidas. Así pues, en este Trabajo Fin de Máster (TFM) se ha trabajado con diferentes bases de datos obtenidas con diferentes dispositivos, lo que añade una cierta dificultad al tratar de conseguir un algoritmo que se pueda adaptar a todo tipo de calidad, resoluciones, etc. de las imágenes. En un futuro, cuando se tenga el dispositivo del proyecto

desarrollado y, con él, las imágenes definitivas tomadas mediante el mismo, se podrá realizar un ajuste del algoritmo de segmentación conociendo mejor el tipo de imágenes a procesar, así como su calidad y resolución.

Pasando al desarrollo de los algoritmos en sí, en primer lugar se ha realizado la prueba de dos algoritmos de segmentación de imágenes en sí, el algoritmo de *minimal path* [9] y el de Segmentación de Siete capas de la retina [4]. Para la comprobación del correcto funcionamiento de ambos algoritmos se han realizado pruebas con diferentes tipos de imágenes, mácula y disco con diferentes tipos de escaneo: circular, lineal vertical, lineal horizontal, etc. Como conclusión, se podría decir que se obtiene el resultado esperado con ambos algoritmos. El primero de ellos se emplea como paso previo para el conocimiento de la forma y posición aproximada de la capa RNFL.

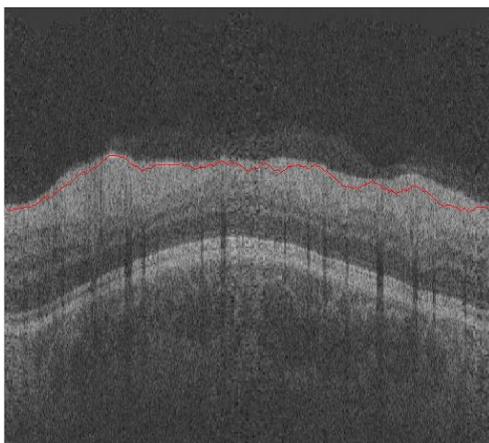


Figura 113. RNFL mediante *minimal path*.

En cambio, el segundo, se comprueba que para la mayoría de imágenes empleadas tiene un correcto funcionamiento, siendo capaz de segmentar los límites de la capa con bastante precisión y exactitud.

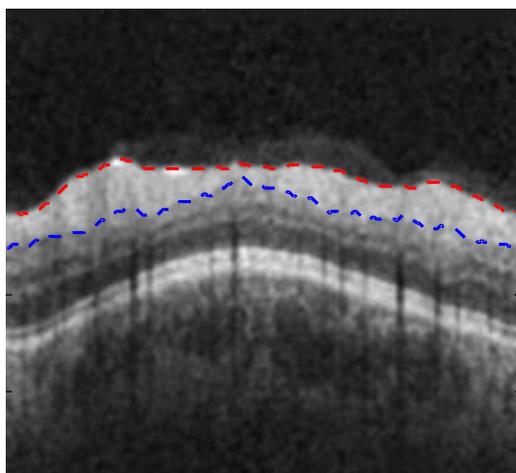


Figura 114. Límites superior e inferior de la RNFL: *ilm* y *rNFL-gcl*.

Cabe decir, que para el caso de las imágenes centradas en disco óptico el algoritmo resulta igualmente válido, teniendo en cuenta que un paso previo es necesario, debido a la presencia del disco en sí. El disco se trata de la zona de la retina que une el nervio óptico con la retina en sí, y no es una estructura de diferentes tejidos formando capas sino que más bien se observa como una gran sombra. De tal manera, para este caso debe dividirse la imagen con tal de procesar por separado la parte

izquierda de la imagen y la parte derecha de la imagen, sin el proceso del nervio óptico en sí, ya que como se ha comentado es una gran sombra y en ella no es posible observar ninguna capa intrarretinal.

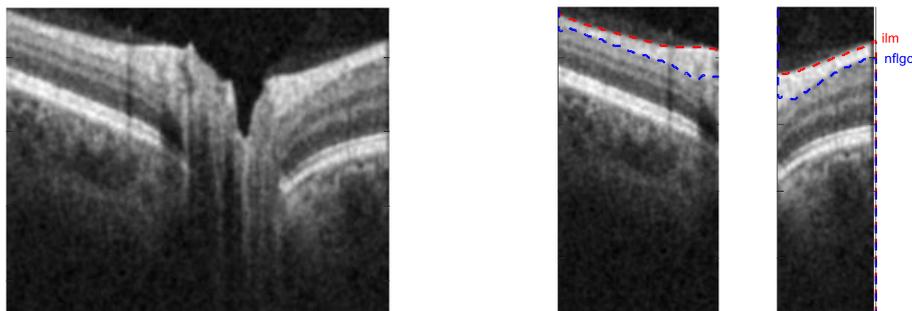


Figura 115. RNFL en dos partes cuando hay presencia del disco óptico.

Por otra parte, una vez se ha comprobado la correcta segmentación mediante el segundo método, se pasa a obtener los resultados que conciernen a la capa RNFL en sí, que es la capa empleada para el diagnóstico del glaucoma y, por tanto, la más relevante en el desarrollo del trabajo. Una vez se tiene la segmentación correcta de la capa, se procede a realizar la medida del espesor de la misma y a partir de ello, representarlo y compararlo con la base de datos, con el fin de conocer si el ojo que se está procesando está sano o por el contrario es glaucomatoso.

6.2. Líneas futuras

Para concluir el trabajo, se pasa a describir una serie de conceptos o ideas que podrían ser llevados a cabo en un futuro.

En cuanto al algoritmo de segmentación, cuando el dispositivo OCT diseñado en el proyecto GALAHAD de nueva generación estuviera listo y se contara con las imágenes tomadas por él, se podría realizar pruebas con tal de conocer las características de las mismas. Así pues sería posible la adaptación del algoritmo de segmentación teniendo en cuenta las imágenes en cuestión, no sería lo mismo contar con imágenes con una calidad elevada, como la de la derecha de la Figura 116, o contar con imágenes de calidad reducida, como la de la izquierda de la misma figura.

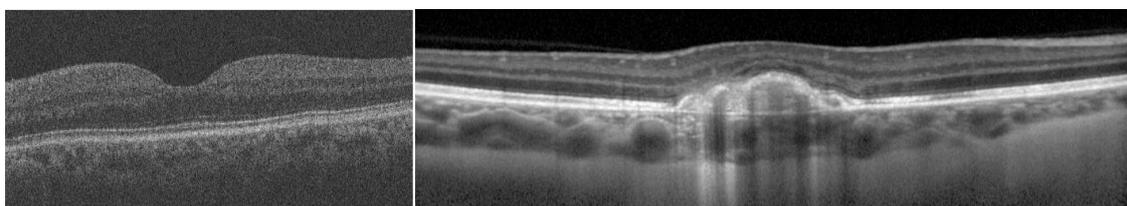


Figura 116. Imágenes OCT con calidades muy diferentes.

En esta Figura 116, como ya se ha introducido, se observan dos imágenes con una calidad completamente diferente. En el caso de la izquierda, que se trata de una imagen con una calidad muy baja en la que manualmente resulta casi imposible segmentar ciertas capas, sería necesario un preprocesado mayor debido a la elevada presencia de ruido y su mala calidad. En cambio, en la segunda de ellas, el ruido no supone un problema tan grave como en la anterior y la calidad es mucho mejor, por tanto mediante estas imágenes se podría obtener unos resultados mucho más precisos y un algoritmo que pudiera centrarse en mejorar ciertas medidas en capas de la retina. Por ejemplo, podría

pasar a desarrollarse un análisis de la capa GCL (en el siguiente párrafo se explica el interés en esta capa) ya que la calidad de la imagen permite una diferenciación de la misma con la RNFL, cosa que en la imagen izquierda resulta prácticamente imposible hasta por un experto examinador.

En cuanto al diagnóstico del glaucoma, en un futuro podría añadirse a este proceso una nueva medida, que pudiese servir de apoyo al existente método basado en el adelgazamiento de la RNFL. Como ya se introduce en el capítulo donde se habla del diagnóstico de la enfermedad, la capa GCL en esta enfermedad también sufre cierto adelgazamiento en la zona macular. Por tanto podría plantearse la posible adición del proceso de segmentación de la capa GCL, que se trata de la siguiente capa en orden descendente después de la RNFL. En cierto modo, esto podría resultar sencillo ya que el límite superior de la misma ya es conocido mediante la segmentación de la RNFL, cuyo algoritmo de segmentación ya está desarrollado, de manera que habría que adaptarlo con tal de que fuera capaz de segmentar también el límite inferior de la misma, es decir, el límite entre la capa GCL y la siguiente en orden descendente (IPL, *Inner Plexiform Layer*). Para ello se ha tomado un fragmento de la imagen derecha de la Figura 116 y se ha generado la Figura 117, con tal de observar gráficamente como la capa GCL en esta imagen con buena calidad y resolución puede diferenciarse de la RNFL, en la posición donde se ve una línea roja a trazos.

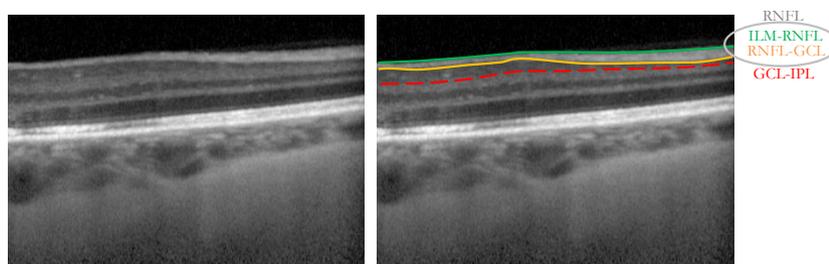


Figura 117. GCL, límites superior e inferior: RNFL-GCL (naranja) conocido y GCL-IPL (rojo) a calcular.

Este programa ha sido realizado en MATLAB, empleando el mismo como una herramienta sencilla y muy útil para el ámbito de la investigación por tratarse de un programa con gran cantidad de funciones a disposición del usuario y facilidad de extracción de resultados. Pero una vez ha sido diseñado el algoritmo de segmentación y procesado, pasaría a desarrollarse en un entorno de procesado más rápido, que pudiera procesar en tiempo real, ya que como se ha visto anteriormente, los equipos con tecnología SDOCT son capaces de almacenar imágenes e incluso vídeos, así como visualizarlos en tiempo real, lo que hace la necesidad de reducción del tiempo de computación algo imprescindible y una posibilidad sería la implementación en C++.

Finalmente, se pasa a explicar brevemente la nueva tecnología empleada por el dispositivo en proceso de desarrollo con tal de obtener una idea básica [6]. Este dispositivo está basado en el sistema oct convencional pero incluye una tecnología novedosa que permitiría aún más el aumento de la resolución y de la información obtenida. Mientras la tomografía de coherencia óptica convencional mide la intensidad de las reflexiones espaciales en un orden aproximado de micras (μm), esta nueva tecnología aprovecha la información adicional que conlleva la polarización de la luz reflejada. Por tanto, PSDCT puede revelar información importante que no se encuentra disponible mediante SDOCT convencional.

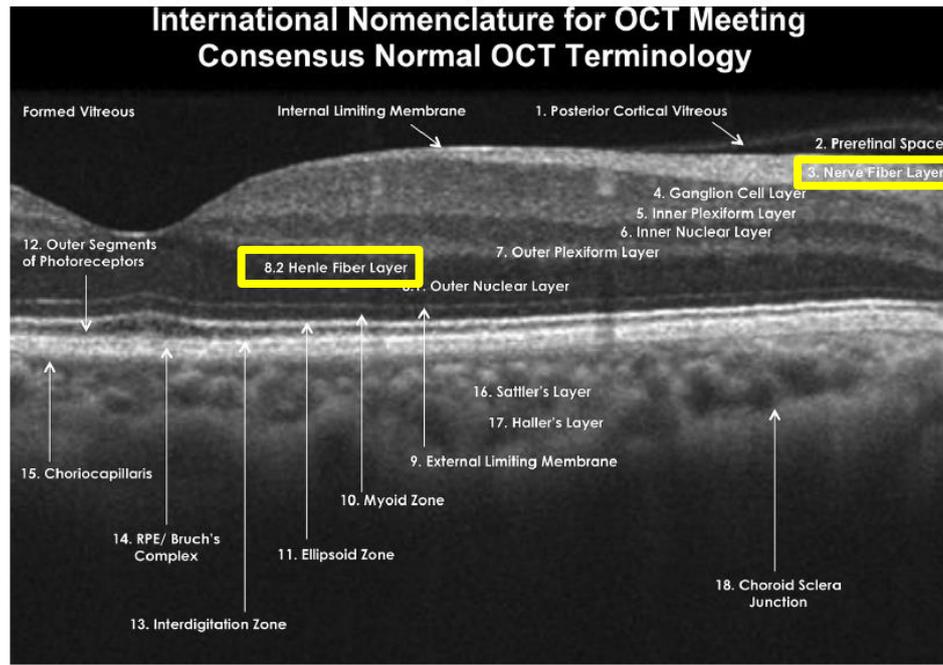


Figura 118. La capa RNFL y la Henle son birrefringentes.

Esta tecnología se basa en el cambio del estado de la polarización de la luz debido a la reflexión producida en el tejido según mecanismos como la birrefringencia, entre otros. De manera que, basados en este hecho, han surgido varias posibles aplicaciones de PS-OCT para realizar diagnósticos médicos. Un ejemplo de ello consiste en las mediciones de birrefringencia³ en ciertas partes de la retina para detectar enfermedades oftalmológicas como el glaucoma, entre otras. Concretamente, en la retina, la capa de fibras nerviosas, RNFL, y la capa de fibras de Henle son birrefringentes, lo cual es de gran importancia para el diagnóstico de esta patología.

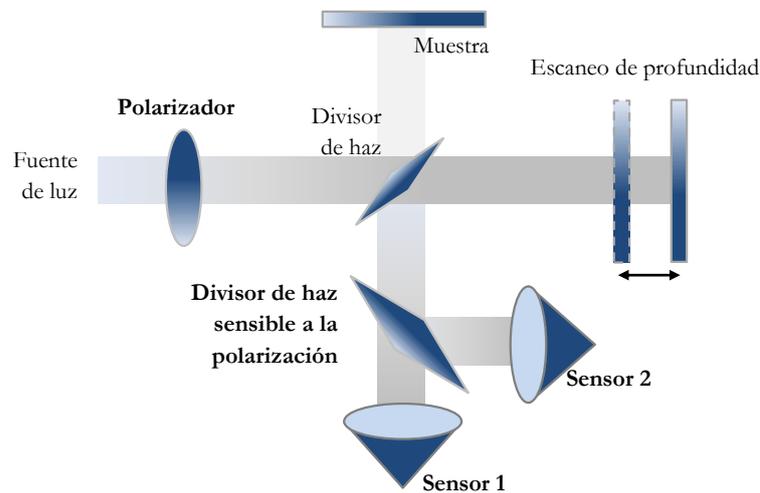


Figura 119. Esquema básico PS-OCT.

³ Los medio birrefringentes presentan índices de refracción distintos según la componente del campo óptico. Cuando la luz se refracta en un medio birrefringente se produce una doble refracción, es decir que se divide en dos haces con polarizaciones perpendiculares. Se llama haz ordinario al perpendicular al eje óptico y haz extraordinario al no perpendicular al eje óptico.

Para la detección correcta de los mecanismos que ocurren en la reflexión de las capas, como la birrefringencia en la capa RNFL, hay tres parámetros importantes a conocer de la señal: la reflectividad, el retraso, y la orientación del eje. Para ello es necesario el conocimiento y registro de manera exacta y sensible de la fase de las señales interferométricas en los dos canales de polarización ortogonal. Así pues los componentes nuevos, que no se encuentran en la OCT convencional, son los sensores para los dos canales de polarización ortogonal y el polarizador de la fuente de luz. La muestra por tanto, va a ser iluminada con polarización circular, obtenida tras pasar por el polarizador, y como resultado se van a obtener señales analíticas en los dos sensores de los canales ortogonales, tanto en el canal de polarización horizontal (H) como vertical (V), obteniendo de esta manera las intensidades de las reflexiones obtenidas para cada uno de ellos. Las señales obtenidas permitirán obtener información acerca de la birrefringencia producida por las capas de la retina.

Bibliografía

- [1] A. C. Sull, L. N. Vuong, L. L. Price, V. J. Srinivasan, I. Gorczynska, J. G. Fujimoto, J. S. Schuman, and J. S. Duker, “Comparison of Spectral / Fourier Domain Optical Coherence Tomography Instruments for Assessment of Normal Macular Thickness,” *Retina*, vol. 30, no. 2, 2010.
- [2] Brezinski, M. E. (2006). *Optical coherence tomography: principles and applications*. Text Book (Vol. 13).
- [3] Cheung, C. Y. L., & Leung, C. K. (2009). A Practical Guide for Interpretation of Optical Coherence Tomography Retinal Nerve Fiber Layer Measurement. *Current Journal of Glaucoma Practice with DVD*, 9–13. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10008-1003>.
- [4] Chiu, S. J., Li, X. T., Nicholas, P., Toth, C. A., Izatt, J. A., & Farsiu, S. (2010). Automatic segmentation of seven retinal layers in SDOCT images congruent with expert manual segmentation. *Optics Express*, 18(18), 19413–28. <https://doi.org/10.1364/OE.18.019413>.
- [5] G. J. Jaffe, “Normative Databases for SD-OCT: Only Part of the Story,” *Retina Today*, vol. September, pp. 59–61, 2012.
- [6] Götzinger, E., Pircher, M., & Hitzenberger, C. K. (2005). High speed spectral domain polarization sensitive optical coherence tomography of the human retina. *Optics Express*, 13(25), 10217–10229. <https://doi.org/10.1364/OPEX.13.010217>
- [7] I. C. Han and G. J. Jaffe, “Comparison of spectral- and time-domain optical coherence tomography for retinal thickness measurements in healthy and diseased eyes,” *American Journal of Ophthalmology*, vol. 147, no. 5, pp. 847 – 858.e1, 2009
- [8] Kersten, H. M., Roxburgh, R. H., & Danesh-Meyer, H. V. (2014). Ophthalmic manifestations of inherited neurodegenerative disorders. *Nature Reviews Neurology*, 10(6), 349–362. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2014.79>. http://www.nature.com/nrneurol/journal/v10/n6/fig_tab/nrneurol.2014.79_F3.html?foxtrotc_allback=true
- [9] Luengo-Oroz, M. A., Faure, E., & Angulo, J. (2010). Robust iris segmentation on uncalibrated noisy images using mathematical morphology. *Image and Vision Computing*, 28(2), 278–284. <https://doi.org/10.1016/j.imavis.2009.04.018>.
- [10] Mahmudi, T., Kafieh, R., Rabbani, H., Mehri Dehnavi, A., & Akhlagi, M. (2014). Comparison of macular OCTs in right and left eyes of normal people. *Progress in Biomedical Optics and Imaging - Proceedings of SPIE*, 9038(February 2014), 0–6. <https://doi.org/10.1117/12.2044046>
- [11] Nolte, D. D. (2012). *Optical Interferometry for Biology and Medicine*. Bioanalysis: Advanced Materials, Methods, and Devices. Text Book.
- [12] Puell Marín, M^a Cita. Dra. De la Universidad Complutense de Madrid. *Óptica Fisiológica: El sistema óptico del ojo y la visión binocular*.
- [13] Staurenghi, G., Sadda, S., Chakravarthy, U., & Spaide, R. F. (2014). Proposed lexicon for anatomic landmarks in normal posterior segment spectral-domain optical coherence tomography: The IN•OCT consensus. *Ophthalmology*, 121(8), 1572–1578. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.02.023>.

- [14] Teresa C. Chen, MD, Audrey Zeng, MD, PhD, Wei Sun, BS, Mircea Mujat, PhD, and Johannes F. de Boer, PhD. Spectral Domain Optical Coherence Tomography and Glaucoma. US National Library of Medicine National Institutes of Health. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2679587>
- [15] Vincent, L. (1998). Minimal path algorithms for the robust detection of linear features in gray images. *Ismm*, 12, 331–338.
- [16] V. Gupta, A. Gupta, and M. R. Dogra, *Atlas of Optical Coherence Tomography of Macular Diseases and Glaucoma, Chapter 3*. CRC Press, 2004.
- [17] Mathworks. MexFunction. <https://es.mathworks.com/help/matlab/apiref/mexfunction.html>.
- [18] Mathworks. MexFunction. https://es.mathworks.com/help/matlab/matlab_external/gateway-routine.html.
- [19] MEDWave. Revista Biomédica. Evaluando el nervio óptico en glaucoma. <https://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/PuestaDia/Cursos/3236>.
- [20] MedlinePlus. Glaucoma. <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/001620.htm>.
- [21] Topcon. 3DOCT-2000_E. http://www.topcon.co.jp/en/eyecare/products/product/diagnostic/oct/3DOCT-2000_E.html.
- [22] University of Wisconsin. School of Medicine and Public Health. Department of Ophthalmology and Visual Sciences. http://eyephoto.ophth.wisc.edu/photography/PDFs/Topcon_3D_OCT.pdf.

Figuras

- Figura 2. File:Schematic diagram of human eye multilingual.svg. (2016, May 5). Wikimedia Commons.https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Schematic_diagram_of_human_eye_multilingual.svg&oldid=195342961.
- Figura 8. Figure 2. Staurenghi, G., Sadda, S., Chakravarthy, U., & Spaide, R. F. (2014). Proposed lexicon for anatomic landmarks in normal posterior segment spectral-domain optical coherence tomography: The IN•OCT consensus. *Ophthalmology*, 121(8), 1572–1578. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.02.023>.
- Figura 9. Figura ‘OCT de un paciente con edema macular diabético y exudados lipídicos temporales a la fóvea del ojo izquierdo’. <http://josegutierrezamoros.es/tomografia-de-coherencia-optica-oct/>.
- Figura 43. Jean Cousty : "Discrete watersheds: theory and applications to cardiac image segmentation", PhD thesis, 2007.
- Figura 44. Figure 1. Staurenghi, G., Sadda, S., Chakravarthy, U., & Spaide, R. F. (2014). Proposed lexicon for anatomic landmarks in normal posterior segment spectral-domain optical coherence tomography: The IN•OCT consensus. *Ophthalmology*, 121(8), 1572–1578. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.02.023>.

- Figura 45. Figure 2. Luengo-Oroz, M. A., Faure, E., & Angulo, J. (2010). Robust iris segmentation on uncalibrated noisy images using mathematical morphology. *Image and Vision Computing*, 28(2), 278–284. <https://doi.org/10.1016/j.imavis.2009.04.018>.
- Figura 56. Figure 2. Staurengi, G., Sadda, S., Chakravarthy, U., & Spaide, R. F. (2014). Proposed lexicon for anatomic landmarks in normal posterior segment spectral-domain optical coherence tomography: The IN•OCT consensus. *Ophthalmology*, 121(8), 1572–1578. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.02.023>.
- Figura 61. Figura 6a y 7a. Chiu, S. J., Li, X. T., Nicholas, P., Toth, C. A., Izatt, J. A., & Farsiu, S. (2010). Automatic segmentation of seven retinal layers in SDOCT images congruent with expert manual segmentation. *Optics Express*, 18(18), 19413–28. <https://doi.org/10.1364/OE.18.019413>.
- Figura 62. Figura 6a y 7b. Chiu, S. J., Li, X. T., Nicholas, P., Toth, C. A., Izatt, J. A., & Farsiu, S. (2010). Automatic segmentation of seven retinal layers in SDOCT images congruent with expert manual segmentation. *Optics Express*, 18(18), 19413–28. <https://doi.org/10.1364/OE.18.019413>.
- Figure 66. An easy method to differentiate retinal arteries from veins by spectral domain optical coherence tomography: retrospective, observational case series. <https://link.springer.com/article/10.1186/1471-2415-14-66>.
- Figura 68. Figure 2. Staurengi, G., Sadda, S., Chakravarthy, U., & Spaide, R. F. (2014). Proposed lexicon for anatomic landmarks in normal posterior segment spectral-domain optical coherence tomography: The IN•OCT consensus. *Ophthalmology*, 121(8), 1572–1578. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.02.023>.
- Figura 79. An output of the RNFL analysis on Carl Zeiss Meditec’s Cirrus HD-OCT. . <https://www.reviewofoptometry.com/ce/the-impact-of-imaging-devices>.
- Figura 109. Three-dimensional spectral-domain optical coherence tomography data analysis for glaucoma detection. https://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php?img=PMC3569462_pone.0055476.g001&req=4