



LIBRO DE ACTAS

XXXV CONGRESO ANUAL DE LA SOCIEDAD
ESPAÑOLA DE INGENIERÍA BIOMÉDICA



CASEIB
2017
XXXV

erman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea



CASEIB
2017
XXXV

Congreso Anual
de la Sociedad
Española de
Ingeniería
Biomédica

LIBRO DE ACTAS

eman ta zabal zazu

Universidad del País Vasco
Euskal Herriko Unibertsitatea

BILBOKO
INGENIARITZA
ESKOLA
ESCUELA
DE INGENIERÍA
DE BILBAO



Bilbao, 29 de Noviembre - 1 de Diciembre

CIP. Biblioteca Universitaria

Sociedad Española de Ingeniería Biomédica. Congreso anual (35º. 2017. Bilbao)

CASEIB 2017 [Recurso electrónico]: XXXV Congreso anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica : Libro de actas, Bilbao 29 de Noviembre - 1 de Diciembre / [editores científicos, Raimon Jané Campos ... (et al.)] . - Datos. - Bilbao : Universidad del País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea, Argitalpen Zerbitzua = Servicio Editorial, [2018]. - 1 recurso en línea : PDF (594 p.)

En la port.: Escuela de Ingeniería de Bilbao (UPV/EHU)

Textos en inglés y español.

Modo de acceso: World Wide Web.

ISBN: 978-84-9082-797-0

1. Ingeniería biomédica - Congresos. 2. Medicina - Aparatos e instrumentos. - Congresos. I. Jané Campos, Raimon, ed. II. Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea. Escuela de Ingeniería de Bilbao.

61:62(063)

Título:

Libro de Actas. XXXV Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica

Los contenidos de esta publicación han sido evaluados por el Comité Científico que en ella se relaciona y según el procedimiento que se recoge en www.caseib17.es

Editores Científicos:

Raimón Jané Campos

Elisabete Aramendi Ecenarro

Unai Irusta Zarandona

Erik Alonso González

Maquetación:

Unai Irusta Zarandona

Erik Alonso González

Editorial:

Servicio Editorial de la Universidad del País Vasco

Euskal Herriko Unibertsitateko Argitalpen Zerbitzua

www.ehu.eus/argitalpenak

ISBN: 978-84-9082-797-0



Libro de Actas

XXXV Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica

Se distribuye bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional.

PREÁMBULO

Estimados congresistas,

En nombre del Comité Organizador, es un honor darles la bienvenida al XXXV Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB2017) que se celebrará del 29 de Noviembre al 1 de Diciembre en las instalaciones del “Bizkaia Aretoa” de la Universidad del País Vasco en Bilbao.

CASEIB2017 vuelve a ser el foro de referencia a nivel nacional para el intercambio científico de conocimiento, experiencias y promoción de la I+D+i en Ingeniería Biomédica. Un punto de encuentro de científicos, profesionales de la industria, ingenieros biomédicos y profesionales clínicos interesados en las últimas novedades en investigación, educación y aplicación industrial y clínica de la ingeniería biomédica.

En la presente edición, más de 160 trabajos de alto nivel científico serán presentados en áreas relevantes de la ingeniería biomédica, tales como: Procesado de señal e imagen, instrumentación biomédica, Telemedicina, Modelado de sistemas biomédicos, Sistemas inteligentes y sensores, Robótica, Planificación y simulación quirúrgica, Biofotónica y Biomateriales. Cabe destacar las sesiones dedicadas a la competición por el Premio José María Ferrero Corral, y la sesión de Competición de alumnos de Grado en Ingeniería biomédica, que persiguen fomentar la participación de jóvenes estudiantes e investigadores.

Tenemos, además, el honor de contar con las ponencias invitadas de dos científicos de reconocido prestigio internacional. El profesor Luis M. Liz-Marzán, Director Científico al Centro de Investigación Cooperativa en Biomateriales de Donostia-San Sebastián, nos ilustrará sobre la aplicación de los nanomateriales en técnicas de detección y diagnóstico biomédico. Por su parte, el profesor Luca Mainardi, Co-chair del SPiNlabS Laboratory del Politecnico di Milano, centrará su charla en las técnicas modernas de procesado de señal y modelado para la caracterización de la fibrilación atrial.

El programa científico se complementa con dos mesas redondas, la primera sobre los retos y experiencias en la transferencia tecnológica en ingeniería biomédica, y la segunda sobre el desarrollo del grado formativo para la titulación de ingeniería biomédica. Por su parte, el II Foro de Emprendedores en Tecnologías y Sistemas de Información Clínica, que se organiza en colaboración con la FENIN, permitirá acercar los proyectos más innovadores en este ámbito a las empresas del sector.

Deseamos que todos los participantes encuentren en el marco de la ría de Bilbao, junto al museo Guggenheim, la atmósfera propicia para el intercambio enriquecedor de ideas. Que como la araña “Maman” de Louise Bourgeois sean capaces de tejer redes de fructífera colaboración, y que durante unos días puedan acercarse a la experiencia cultural y gastronómica que brinda Bilbao.

¡Bienvenidos! ¡Ongi etorri!



Elisabete Aramendi Ecenarro
Presidenta del Comité Organizador del CASEIB2017

COMITÉ ORGANIZADOR

Presidenta:

Elisabete Aramendi Ecenarro

Secretario:

Josu Aguirrebeitia Celaya

Secretaria Comité Técnico:

Itziar Cabanes Axpe

Vocales:

Erik Alonso González

M^a Luz Álvarez Gutierrez

Arantzazu Burgos Fernández

Oskar Casquero Oyarzabal

Unai Irusta Zarandona

Raquel Martínez Rodriguez

Victor Petuya Arcocha

Eva Portillo Pérez

José Ramón Sarasua Oiz

Asier Zubizarreta Pico

Ester Zuza Hernández

COMITÉ CIENTÍFICO

Presidente:

Raimon Jané Campos
Universidad Politécnica de Catalunya

Secretario:

Unai Irusta Zarandona
Universidad del País Vasco

Vocales

Begoña Acha Piñero
Universidad de Sevilla

Josu Aguirrebeitia Celaya
Universidad del País Vasco

Erik Alonso González
Universidad del País Vasco

Elisabete Aramendi Ecenarro
Universidad del País Vasco

Sergio Arana Alonso
CEIT-TECNUN, San Sebastián

Itziar Cabanes Axpe
Universidad del País Vasco

César Cáceres Taladriz
Universidad Rey Juan Carlos

Pere Caminal Magrans
Universidad Politécnica de Catalunya

Manuel Desco Menéndez
Universidad Carlos III de Madrid

Javier Garcia-Casado
Universidad Politécnica de Valencia

Beatriz F. Giraldo Giraldo
Universidad Politécnica de Catalunya

Enrique J. Gómez Aguilera
Universidad Politécnica de Madrid

Juan F. Guerrero Martínez
Universidad de Valencia

María Elena Hernando Pérez
Universidad Politécnica de Madrid

Jesús Herreros
Clínica Nisa

Roberto Hornero Sánchez
Universidad de Valladolid

Pablo Laguna Lasao
Universidad de Zaragoza

María Jesús Ledesma
Universidad Politécnica de Madrid

José Millet Roig
Universidad Politécnica de Valencia

Carlos Monserrat Aranda
Universidad Politécnica de Valencia

Maite Mujika Garmendia
CEIT-TECNUN, San Sebastián

Victor Petuya Arcocha
Universidad del País Vasco

Eva Portillo Pérez
Universidad del País Vasco

Jesús Poza Crespo
Universidad de Valladolid

Javier Reina Tosina
Universidad de Sevilla

José Joaquín Rieta Ibáñez
Universidad Politécnica de Valencia

Laura M. Roa Romero
Universidad de Sevilla

Isabel Román Martínez
Universidad de Sevilla

Francisco Javier Rosell Ferrer
Universidad Politécnica de Cataluña

Francisco Javier Saiz Rodríguez
Universidad Politécnica de Valencia

Patricia Sánchez González
Universidad Politécnica de Madrid

Daniel Sánchez Morillo
Universidad de Cádiz

F. Miguel Sánchez Margallo
C.C.M.I. Jesús Usón

Andrés Santos Lleó
Universidad Politécnica de Madrid

José Ramón Sarasua Oiz
Universidad del País Vasco

Carmen Serrano Gotarredona
Universidad de Sevilla

Jose María Tormos Muñoz
Instituto Guttman

Montserrat Vallverdu Ferrer
Universidad Politécnica de Catalunya

Juan José Vaquero
Universidad Carlos III de Madrid

Ester Zuza Hernández
Universidad del País Vasco

ORGANIZADORES



BILBOKO
INGENIARITZA
ESKOLA
ESCUELA
DE INGENIERÍA
DE BILBAO



PATROCINADO POR



AVALADO POR



ÍNDICE DE SESIONES CIENTÍFICAS

Miércoles, 29 de Noviembre

Sesión: Señales Biomédicas I

Detección de fibrilación ventricular mediante técnicas de aprendizaje profundo	3
Predicción del éxito de la desfibrilación mediante entropía difusa en términos de recuperación de ritmo cardíaco regular, pulso y supervivencia	7
Solución Multietapa para Diagnóstico del Ritmo Cardíaco durante la Resucitación Cardiopulmonar	11
Potencial de la señal de capnografía para la detección de pulso durante la resucitación cardiopulmonar	15
Estudio de la Variabilidad del Intervalo TQ para la Detección Automática de Episodios Cortos de Fibrilación Auricular	19
Método de Delineación de Electrogramas Fragmentados en Fibrilación Auricular	23

Sesión: Imagen Biomédica I

Implementación Paralela de Secuencias de Resonancia Magnética mediante Programación en GPU.	29
Desarrollo de algoritmos automáticos para evaluar la calidad de imagen en TC y RM.....	33
XAPLAB: Software de diseño de protocolos de adquisición con equipos de rayos X	37
ADC-Weighted Joint Registration-Estimation for Cardiac Diffusion Magnetic Resonance Imaging	41
Avoiding additional hardware and recovering cardiac information from k-space	45
An automated pipeline based on computational algorithms to extract Imaging Biomarkers and integrate them to calculate a new parameter to assess bone fracture: Quality of Trabecular Structure (QTS)	49

Sesión: Instrumentación Biomédica

Aerosol Delivery by Inhalation Catheter and Trachea Digitalization.....	55
Dispositivo portable para la monitorización no obstructiva del ritmo respiratorio.....	59
Diseño de plataforma para la captura y análisis de datos de electroencefalografía combinados con fotopletismografía para la detección de umbrales de dolor en población sana y patológica...	63

Evaluación de la calidad de la cirugía y ergonomía del cirujano durante la anastomosis uretrovesical realizada con un instrumental robotizado	67
---	----

Sesión: Sesión Pósters 1

Reducción del Ruido de Red en Electrogramas Auriculares Mediante Transformada Wavelet Estacionaria.....	73
Desarrollo de una placa de osteosíntesis personalizada como técnica de fijación y posicionamiento simultáneo del maxilar superior en osteotomías tipo Lefort I en cirugía ortognática	77
Desarrollo de una metodología de segmentación y cuantificación automática mediante un umbral adaptativo del enfisema y las regiones de baja densidad funcional pulmonar a partir de imágenes de TCMD	81
Caracterización de la actividad muscular respiratoria en señales de electromiografía de superficie adquiridas mediante electrodos anulares concéntricos	85
Temporal recruitment of forelimb proximal and distal muscles during reaching and grasping	89
Impresión 3D en el Sistema Sanitario: Una revolución a medida.....	93
App móvil para el seguimiento continuo de la hipertensión y mejora de la adherencia al tratamiento.....	97

Sesión: Telemedicina I

Adaptación de sistemas heredados mediante la especificación HL7 FHIR	103
Oportunidades para la transmisión de información medica en las nuevas redes de misión critica .	107
Estudio comparativo de plataformas y herramientas de tratamiento de sistemas Big Data en Telemedicina	111
Diseño de una Interfaz entre la Monitorización del Enfermo Crítico y el Sistema Domótico de una Unidad de Cuidados Intensivos Inteligente	115

Sesión: Modelado I

Inclusión de información a priori en la solución del problema inverso de electrocardiografía durante fibrilación auricular	121
Estudio mediante simulación computacional del acoplamiento eléctrico entre miocitos auriculares y fibroblastos en condiciones fisiológicas y de fibrilación auricular crónica	125
Validación del Cálculo y Representación Gráfica de la Mecánica Pulmonar durante la Ventilación Mecánica	129
Entrainment Model Based on Spatio-temporal Impulse Response and Restitution Properties	133

Sesión: Biomateriales I

Polímeros biodegradables con moléculas biológicamente activas para la prevención de infecciones en dispositivos biomédicos	139
--	-----

Biodegradable Polyester / Crystalline Nanocellulose Nanocomposites for Biomedical Applications: Preparation and Characterization	143
Propiedades mecánicas de nanocomposites de matriz Poli-lactida- ϵ -caprolactona reforzados con nanotubos de carbono funcionalizados con polivinilpirrolidona y polidopamina	147
Andamios de PLGA/nHA para regeneración ósea, efectos de su composición sobre Citotoxicidad y degradación In Vitro.....	151

Sesión: Sistemas inteligentes y sensores

Implementación de un sistema de trazabilidad de la temperatura de conservación y transporte de los concentrados de hematíes enviados a quirófano. Reutilización de los hemoderivados bien conservados.....	157
Optimización de las redes de tratamiento en drogodependencia mediante el uso de servicios cognitivos en la nube.....	159
Detección y clasificación de patrones globales en lesiones pigmentadas	163
Análisis de la radiación óptica sobre cianobacterias en foto-biorreactores.....	167

Sesión: Señales Biomédicas II

Estudio de Alternativas para Reducir Ruido de Alta Frecuencia en Electrogramas Bipolares de Fibrilación Auricular	173
Estudio de la onda P en registros electrocardiográficos de pacientes con fibrilación auricular paroxística antes y después del aislamiento de las venas pulmonares	177
Estimación de la Longitud del Ciclo Auricular en Electrogramas de Fibrilación Auricular: Estudio Comparativo.....	181
Análisis Espectral del ECG Como Asistencia para la Terminación de Ablación por Catéter en Fibrilación Auricular.....	185

Sesión: Imagen Biomédica II

Serial Section Alignment of Histopathological Images stained with different Biomarkers	191
Ki67 Hot-Spots Detection on Histopathological Images of Breast Carcinoma using Convolutional Neural Networks	195
Contaje de mitosis en imágenes histológicas mediante redes neuronales convolucionales.....	199
Desarrollo de un algoritmo de segmentación para la detección de diferentes componentes tisulares para la valoración de daño hepático	203

Sesión: Señales Biomédicas III

Análisis de fluctuaciones sin tendencias (DFA) en los registros de oximetría para la ayuda en el diagnóstico del síndrome de la apnea-hipopnea del sueño infantil	209
Towards a Quantification of EEG Brain Activity in the Self-Pacing Regime	213

Caracterización de los Patrones de Flujo de Información en el EEG de Pacientes con Deterioro Cognitivo Leve	217
Promediado de potenciales de acción de unidad motora basado en ventanas deslizantes	221
Improvement of non-invasive intrauterine pressure estimation based on Electrohysterogram	225
Caracterización de la complejidad de la señal electrohisterográfica en mujeres con amenaza de parto prematuro mediante Lempel-Ziv	229

Sesión: Imagen Biomédica III

Solución tecnológica para el cálculo automático de la escala de Boston sobre imágenes colonoscópicas	235
Detección e identificación de vértebras en imágenes de TC empleando técnicas de inteligencia artificial y procesamiento de imagen	239
Extracción de superficie con escáner de luz estructurada para tomografía de ángulo limitado	243
Corrección de artefacto por movimiento respiratorio para TAC de pequeño animal en estudios con bajas dosis de radiación	247
Accurate lung segmentation of thorax CT images on a Tuberculosis infection model	251

Sesión: Telemedicina II

Machine learning para el análisis de terapia en Reminiscencia para personas con deterioro cognitivo	257
Sistema de respuesta vocal interactiva para el acceso a una plataforma de asistencia remota a pacientes nefrológicos	261
Proyecto PREDIRCAM 2. Análisis preliminar de uso y valoración de la plataforma	265
Sistema de entrenamiento para el masaje cardiaco en la reanimación cardiopulmonar	269

Sesión: Robótica

Diseño cinemático de dispositivo de tracking del paciente para procedimientos quirúrgicos	275
Robot de rehabilitación configurable para terapias del miembro superior	279
Virtual reality training platform for flexible ureterorenoscopy interventions with a minimally invasive surgical robot	283
Neuromonitoring during Robotic Cochlear Implantation: first clinical experience	287

Sesión: Planificación y simulación quirúrgica

Automatic detection of surgical instruments' state in laparoscopic video images using neural networks	293
Cirugía pancreática laparoscópica y por puerto único guiada por fluorescencia: Modelo de tumor pancreático, dosis y abordaje quirúrgico.....	297
Prone to supine surface-based registration for surgical planning in breast cancer treatment	301

Sesión: Sesión Pósters 2

Estudio de la usabilidad de dos tecnologías aplicadas a pacientes de ELA: Interfaz Cerebro-Computador y Eyetracker	307
Development of a Test-Bench for the Accurate positioning of Scintillation Detector Modules for Medical Imaging Applications	311
Célula Robotizada de Bajo Coste para Realizar Tinciones de Gram de Forma Automática	315
Towards an Objective Criteria for the Diagnosis of Parkinson Disease Based on Speech Assessment	319
Human Actigraphy's Analysis Through an Inertial Sensor	323

Evaluación de un Articulador Virtual para la identificación de interferencias en movimientos mandibulares excéntricos	327
---	-----

Sesión: Premio Jose María Ferrero

Utilización de microhilos magnéticos para promover la muerte de células de osteosarcoma mediante hipertermia magnética in vitro	333
Caracterización de las respuestas a la estimulación beta-adrenérgica en el síndrome LQT1	337
Estudio de la conectividad neuronal dinámica en la enfermedad de Alzheimer	341
Hidrogeles termosensibles basados en quitosano para liberación dual de fármacos	345
Método para visualización simultánea en imagen de rayos X de tejidos de muy diferente densidad	349
Estudio del efecto de la posición, polaridad y número de electrodos sobre el área de parestesia en la terapia de EME mediante el uso de un modelo 3D de médula espinal	353

Sesión: Competición alumnos de GIB

Electroporación como Método para Fusionar Células de Ovario de Hámster Chino y Vesículas Poliméricas Unilamelares Gigantes	359
Integración de microestructuras en dispositivos microfluídicos para la optimización de la interacción tratamientos-monocapa celular en estudios citotóxicos	363
Influencia de la frecuencia respiratoria inducida en los valores HRV	367
Towards an ensemble-level view of place encoding in hippocampal neuronal populations	371
Non-linear vibrations of an idealized saccular aneurysm	375
Development of a prototype to facilitate the mobility of blind people through object recognition and text to speech technology	379
Estudio Mediante Simulación de la Influencia de las Mitocondrias en la Dinámica del Calcio en Cardiomiocitos	383
Estudio de las alteraciones en la conectividad funcional cerebral en el contexto del trastorno del espectro autista a partir del análisis de imagen por resonancia magnética funcional	387
Comparación de diferentes técnicas de segmentación de células en cultivos neuronales.....	391
3D Bioprinted muscle on a chip	395
Medición de la variabilidad del ritmo cardíaco, la impedancia de la piel y el electroencefalograma para la cuantificación del dolor	399
PET Texture Analysis: Does it Have Clinical Significance in Locally Advanced Rectal Cancer? .	403
Long-Short Term Memory Neural Decoder for Cortical Brain-Machine Interface	407
Análisis Numérico del Efecto de la Termoforesis para la Separación de Diferentes Poblaciones de Exosomas.....	411
Estudio comparativo de técnicas para la detección automática de patrones interictales en señal EEG de pacientes epilépticos	415

Study and Analysis of the Effects of Psychological Stress, Mechanical Stresses and Wound Shape in Wound Healing Process both in vivo and in silico	419
Design of an Ultra-Portable Wearable Electrocardiograph.....	423

Sesión: Biofotónica

Development and implementation of a portable low-cost vein finder	429
Detección de <i>Brettanomyces bruxellensis</i> mediante medidas de impedancia con sensores basados en microelectrodos interdigitados	433
Herramientas de monitorización de Terapia Fotodinámica mediante fluorescencia	437
Determinación experimental de la variabilidad intra-clase en tejido adiposo porcino ex-vivo mediante espectroscopía de reflectancia difusa	441

Sesión: Biomateriales II

Estudio de deformaciones en la articulación del hombro con técnicas experimentales optomecánicas.....	447
Radiopaque Material for 3D Printing Scaffolds	451
Biosensores basados en tecnologías de fibra óptica recubierta con materiales nanoestructurados .	455
Characterization of Copper Oxide Nanofluids in Medical Applications: Hospital Infections Cases	459

Sesión: Señales Biomédicas IV

Método para la Delineación de Ondas P en el ECG Basado en Modelado Gaussiano.....	465
Estudio Sobre la Fiabilidad de las Anotaciones en la Base de Datos QT de Physionet.....	469
Modelado de la Influencia de la Variabilidad de Frecuencia Cardíaca en la Turbulencia del Ciclo Cardíaco	473
Scoring y análisis del sueño con técnicas basadas en la proyección sobre variables latentes y aprendizaje automático	477
Análisis de diferencias de segundo orden aplicado a la señal de flujo aéreo monocanal para la ayuda al diagnóstico del síndrome de la apnea-hipopnea del sueño en niños	481
Método de Análisis de Ritmos Fisiológicos Basado en Group Lasso	485

Sesión: Modelado II

Diseño de una metodología para el desarrollo de modelos auriculares personalizados.....	491
Desarrollo de un modelo 3D de la aurícula humana para el estudio de la propagación tisular durante la fibrilación auricular crónica.....	495
Unscented Kalman Filter para el ajuste de parámetros de modelos fenomenológicos de potencial de acción cardíaco.....	499
Estudio mediante simulación de la regulación del calcio intracelular en cardiomiocitos caninos..	503
Univariate vs Multivariate Sensitivity Analysis of Calcium Dynamics in Simulated Human Heart Failure.....	507
Modelo computacional del metabolismo y transporte del colesterol	511

Sesión: Imagen Biomédica IV

Clasificación de Imágenes de Quemaduras Usando Características Físicas y Redes Neuronales Convolucionales.....	517
Algoritmo de segmentación de lesiones pigmentadas de la piel basado en minimización de energías	521
Detección de lesiones rojizas en imágenes de fondo de ojo aplicando diferencias de color en el espacio CIELAB	525
Corrección del efecto de endurecimiento basado en una linealización 2D.....	529

Sesión: Sesión Pósters 3

Entorno didáctico de bajo coste para formación en tecnologías de cirugía guiada por imagen y robótica	535
---	-----

Simulación software/hardware de modelos de generación de potenciales cardíacos con fines docentes.....	539
In-vitro Peripheral Nervous System on a chip	543
Máster Virtual en Ingeniería Biomédica con Cooperación al Desarrollo.....	547
Monitorización cardiovascular mediante técnicas de biofeedback para predicción de patologías cardíacas en adultos mayores	551
Multiscale Entropy and Multiscale Time Irreversibility for Atrial Fibrillation and Heart Failure from 7-Day Holter	555
App Móvil en iOS para el Autocontrol y Educación de Pacientes con Problemas del Corazón ...	559
On the Development of an Algorithm for Automatic Estimation of the Respiratory Rate using Wearable Electrocardiography.....	563

Señales Biomédicas I

Miércoles, 29 de Noviembre

DetECCIÓN DE FIBRILACIÓN VENTRICULAR MEDIANTE TÉCNICAS DE APRENDIZAJE PROFUNDO

A. Picon¹, U. Irusta², A. Alvarez-Gila¹, E. Aramendi², E. Garrote¹, U. Ayala³, F. Alonso-Atienza⁴, C. Figuera⁴

¹ Smart Systems Department, TecNALIA, Derio, Spain, {artzai.picon,aitor.alvarez,estibaliz.garrote}@tecnalia.com

² Departamento de Ingeniería de Comunicaciones, Universidad del País Vasco (UPV-EHU), Bilbao, Spain, {unai.irusta,elisabete.aramendi}@ehu.eus

³ Tratamiento de la Señal y Comunicaciones, Mondragon Unibertsitatea, Arrasate, Spain, uayala@mondragon.edu

⁴ Teoría De La Señal y Comunicaciones y sistemas Telemáticos y Computación, Universidad Rey Juan Carlos, Madrid, Spain, {felipe.alonso,carlos.figuera}@urjc.es

Resumen

La detección de arritmias ventriculares, en particular la fibrilación ventricular (FV), es parte fundamental de los algoritmos de clasificación de arritmias de los desfibriladores. Dichos algoritmos deciden si administrar la descarga de desfibrilación, para lo que clasifican los ritmos en desfibrilables (Sh) o no desfibrilables (NSh). Este trabajo propone un nuevo abordaje para la clasificación Sh/NSh de ritmos basado en un sistema de aprendizaje profundo.

Para el trabajo se emplearon tres bases de datos públicas de la plataforma Physionet (CUDB, VFDB y AHADB), y se extrajeron segmentos de 4 y 8 segundos. Se anotaron los segmentos como Sh y NSH en base a las anotaciones de las bases de datos, que fueron auditadas por expertos. Los datos se dividieron por paciente en 80% para desarrollar los algoritmos y 20% para evaluación. El sistema de aprendizaje profundo emplea dos etapas convolucionales seguidas de, una red long-short-term-memory y una etapa final de clasificación basada en red neuronal. A modo de referencia se optimizó un clasificador SVM basado en las características de detección de arritmias ventriculares más eficientes publicadas en la literatura. Se calculó la sensibilidad (Se), ritmos desfibrilables, especificidad (Sp), ritmos no desfibrilables, y la precisión (Acc).

El método de aprendizaje profundo proporcionó Se, Sp y Acc de 98.5%, 99.4% y 99.2% para segmentos de 4 segundos y 99.7%, 98.9%, 99.1% para segmentos de 8 segundos. El algoritmo permite detectar FV de forma fiable con segmentos de 4 segundos, corrigiendo un 30% de los errores del método basado en SVM.

1. Introducción

La incidencia anual de la parada cardiorrespiratoria extrahospitalaria (PCREH) en España se estima en 18.6 casos de por cada 100 000 habitantes, con un índice de supervivencia inferior al 12% [1]. Una de las principales causas de la PCREH son las arritmias ventriculares malignas, y en particular la fibrilación ventricular (FV). Durante la FV la ausencia de perfusión provoca la muerte en pocos minutos por lo que la pronta intervención es esencial. La única terapia efectiva para revertir la FV es administrar una descarga eléctrica que desfibrile el corazón y lo devuelva a un ritmo normal con perfusión. El Desfibrilador Externo Automático (DEA) es un equipo sencillo que permite que personas mínimamente entrenadas puedan desfibrilar y tratar a pacientes en

PCREH. Los DEAs incorporan un algoritmo automático que mediante el análisis del ECG detecta la FV y suministra la descarga eléctrica.

Los algoritmos DEA analizan segmentos cortos del ECG, del orden de 3-10 segundos, calculan parámetros para la detección de arritmias ventriculares y los combinan en algoritmos de decisión. El algoritmo diagnostica por lo tanto el segmento como desfibrilable (Sh, shockable) o no desfibrilable (NSH, nonshockable). La American Heart Association (AHA) establece que dichos algoritmos deben detectar la FV con sensibilidades superiores al 90%, y deben identificar los ritmos NSH con especificidades superiores al 95% (99% en caso de ritmos sinusales normales, RSN) [2]. En las últimas tres décadas se han estudiado numerosos parámetros de discriminación Sh/NSH [3], y se han comparado sus desempeños empleando bases de datos ECG de acceso público [3,4]. Recientemente se han propuesto técnicas de aprendizaje automático que emplean, seleccionan y usan varios de dichos parámetros [3,5] para la detección de ritmos desfibrilables.

Desarrollos recientes en el ámbito del aprendizaje automático permiten que el propio algoritmo aprenda y seleccione las características de discriminación, explotando así toda la información disponible en las señales. Este es el principio que subyace a los sistemas basados en redes neuronales profundas, y que han sido adaptadas ya para trabajar con señales unidimensionales como el ECG. De hecho existen sistemas de aprendizaje profundo basados en el ECG para la clasificación de latidos [6] y de algunas arritmias [7]. Sobre estos antecedentes, el objetivo de este trabajo es desarrollar un algoritmo de aprendizaje profundo para la detección de FV para su uso en DEAs.

2. Materiales y métodos

2.1. Bases de registros ECG

Para el presente trabajo se emplearon tres bases de datos de acceso público: la bases de datos de arritmias ventriculares del MIT-BIH (VFDB) y de la Creighton University (CUDB), disponibles ambas en la plataforma Physionet [8], y la serie 1 de la base de datos de la AHA

(AHADB). En total se analizaron 77 registros, 22 registros de 30 min de la VFDB (canal 1), 35 registros de 8 min de la CUDB, y 10 registros (8201-8210) de 35 min de la AHADB (canal 1). La frecuencia de muestreo del ECG en todos los casos es de 250Hz.

El ECG se preprocesó siguiendo el esquema propuesto en [4]: (1) sustracción de la media, (2) filtro de media móvil de orden cinco y (3) filtrado pasobanda típico en DEAs (1-30 Hz). Las anotaciones de ritmo de las bases originales se revisaron para adaptarlas al formato AHA [2], es decir se suprimieron intervalos de ruido o artefactados, intervalos con ausencia de ritmo (asistolia), o ritmos intermedios para los que los beneficios de la desfibrilación no son claros. Se anotaron los ritmos en dos clases, Sh y NSh. Los ritmos Sh incluyen las arritmias ventriculares malignas como la FV y taquicardia ventricular rápida, y los ritmos NSh el resto de ritmos/arritmias, como RSN, fibrilación atrial, taquicardias supraventriculares o contracciones ventriculares prematuras. Los registros se segmentaron en intervalos de 4 y 8 seg, por ser éstas las duraciones típicas usadas en los trabajos de referencia [4], y se excluyeron los segmentos que incluyeran transiciones de ritmo.

Finalmente las bases de segmentos se dividieron (por pacientes) en dos subconjuntos, uno para el entrenamiento de los algoritmos con aproximadamente el 80% de los pacientes y otro para evaluar el desempeño con el resto. La tabla 1 muestra un resumen de los segmentos empleados en el trabajo, subrayar que el acceso a los mismos es libre a través de [3].

BBDD	Desarrollo		Evaluación			
	<i>n</i>	Sh/NSh (4seg)	Sh/NSh (8seg)	<i>n</i>	Sh/NSh (4seg)	Sh/NSh (8seg)
VFDB	18	1257/6462	596/3146	4	329/1299	150/634
CUDB	28	598/2374	272/1149	7	118/612	51/297
AHADB	8	989/3050	486/1520	2	287/698	141/340
Total	54	2844/11886	1354/5815	13	734/2609	342/1271

Tabla 1. Bases de datos (BBDD) de desarrollo y evaluación para segmentos de 4 y 8 segundos, por número de registros (*n*), y tipo de ritmo shockable (*Sh*) y no shockable (*NSh*).

2.2. Algoritmos de clasificación

El sistema de aprendizaje profundo empleado en este trabajo se compone tres bloques, tal y como se muestra en la Figura 1. En el bloque inicial una red neuronal convolucional (CNN) extrae los descriptores de alto nivel del ECG. Estos se integran según la dimensión temporal mediante una red LSTM (Long Short-Term Memory) lo que permite una representación de la variabilidad temporal. Finalmente, existe una etapa de clasificación para producir una salida binaria a partir de la predicción (en el rango 0-1) de la red LSTM.

Para la red CNN se emplearon dos bloques convolucionales cada uno con: una capa convolucional de tamaño 3, una función de activación lineal rectificadas

(RELU) y una etapa de max-pooling que permite la compresión temporal de la señal de forma progresiva. Cada capa convolucional se configuró con 32 filtros, y la longitud de la etapa de maxpooling se fijó en 3. Para la red LSTM el número de proyecciones de la red fue de 20. Finalmente, la etapa de clasificación se optimizó mediante el método del descenso del gradiente incremental. Detalles de la red se ilustran en la Figura 1 incluyendo las dimensiones de cada capa.

A modo de referencia se compararon los resultados con los obtenidos siguiendo un esquema de aprendizaje automático clásico, basado en una maquina de vectores soporte (SVM) con función de base radial gaussiana. Los parámetros de la SVM se determinaron mediante optimización bayesiana minimizando el error total ponderado (ver sección 2.3). Para el clasificador SVM se emplearon 6 características típicas que han sido ya identificadas como las de mejor desempeño en trabajos anteriores [3]. Las características seleccionadas fueron: SampEn [9], vFleak [4], x1 [10], x2 [10], bCP [11] y Li [12]. La descripción matemática de los parámetros se encuentra en las referencias citadas, y el código para su cálculo está disponible en [3].

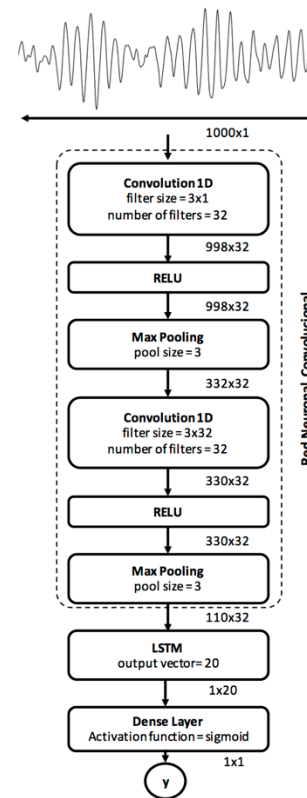


Figura 1. Arquitectura básica del discriminador Sh/NSh basado en técnicas de aprendizaje profundo (segmentos de 4-seg). Se indican en cada bloque las dimensiones de los datos.

2.3. Métricas de desempeño y optimización

Para la definición de las métricas de desempeño de los algoritmos de detección de ritmos desfibrilables se define una matriz de contingencia 2x2 con los ritmos Sh como clase positiva y los NSh como negativa. Se comparan las predicciones de los algoritmos con las anotaciones de ritmo y se obtienen así la sensibilidad (Se), especificidad

(Sp), los valores predictivos positivo y negativo (VPP y VPN) y la precisión (Acc).

Tal y como se observa en la Tabla 1, en la base de datos existe un desequilibrio importante de clases ya que la prevalencia de los ritmos NSh es cuatro veces mayor. Para obtener resultados equilibrados de Se y Sp, se asignaron pesos a las clases positiva y negativa de forma que ambas tuvieran la misma importancia en la optimización de los clasificadores.

3. Resultados

En primer lugar se caracterizó la convergencia del proceso de optimización del clasificador basado en aprendizaje profundo. Los resultados se muestran en la figura 2 para el clasificador basado en segmentos de 4-seg. Se observa que a partir de 50 épocas se obtienen valores aceptables de la función de coste, la entropía cruzada, y que el coste es muy próximo a 0 para más de 250-300 épocas, estabilizándose el coste del bloque de test a un valor de 0.05. Se escogió un valor de 500 épocas para finalizar el proceso de entrenamiento de las redes profundas, tanto con segmentos de 4-seg como de 8-seg.

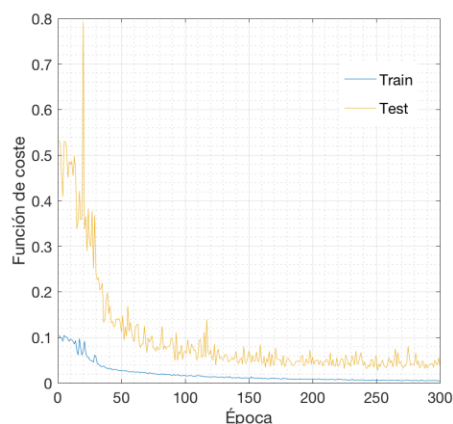


Figura 2. Convergencia de la red para segmentos de 4-seg.

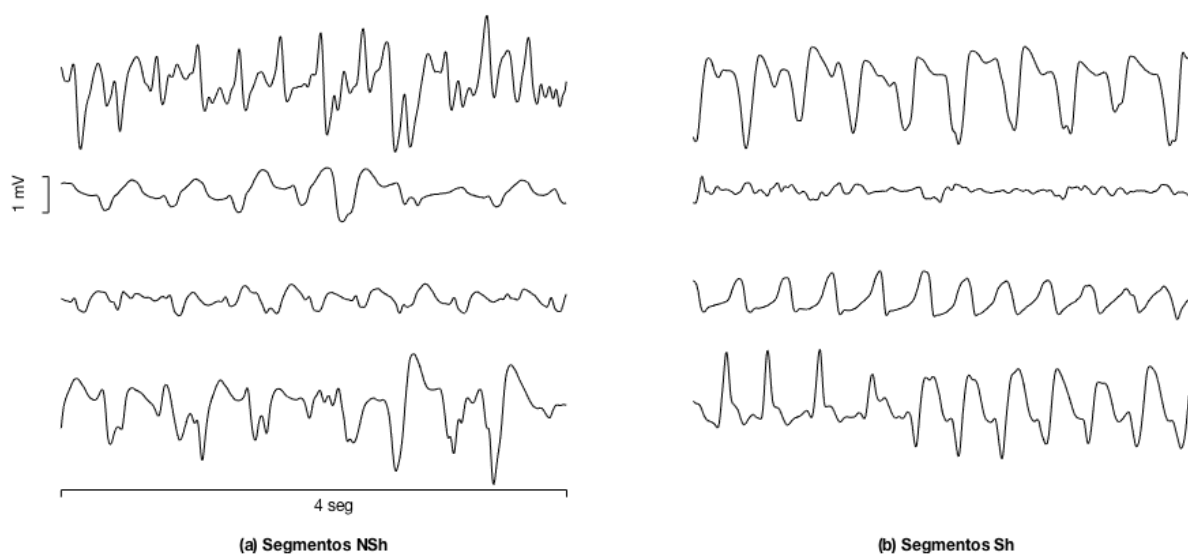


Figura 3. Ejemplos de segmentos de 4seg con errores de clasificación para el clasificador basado en aprendizaje profundo, para ritmos no shockables (izquierda) y ritmos shockable (derecha). Se aprecia que los segmentos incorrectamente clasificados corresponden a ritmos sin complejos QRS bien definidos (no shockables) y a ritmos ventriculares de baja amplitud y/o frecuencia (shockables).

Los resultados de clasificación sobre la base de datos de test se muestran en la Tabla 2. Esta tabla contiene también el análisis de curva ROC de los clasificadores obtenido a partir de la variable continua devuelta por la función de activación de la capa densa (aprendizaje profundo) o de la función de discriminación (SVM). El análisis se hace en base al área bajo la curva (AUC). En los resultados se observa que tanto la Se como la Sp son muy elevadas en ambos casos, pero que se obtienen mejores resultados empleando el sistema de aprendizaje profundo y segmentos de 4-seg para la clasificación.

Método	Métricas de desempeño					
	Se	Sp	VPP	VPN	Acc	AUC
P-4	99.6	99.1	96.7	99.9	99.2	99.35
SVM-4	98.0	99.2	97.0	99.4	98.9	99.03
P-8	100	99.2	97.2	100	99.4	99.96
SVM-8	98.2	99.4	97.7	99.5	99.1	99.81

Tabla 2. Métricas de desempeño de los clasificadores sobre las bases de evaluación. Las abreviaturas de los métodos se leen como P-4 (aprendizaje profundo, con segmentos de 4seg), o SVM-8 (SVM, con segmentos de 8 seg).

Finalmente, la figura 3 muestra ejemplos de errores en la clasificación empleando los algoritmos de aprendizaje profundo. Los ejemplos mostrados son segmentos de 4-segundos de la base de evaluación. Se observa que los segmentos no shockables errados se corresponden con ritmos que no presentan complejos QRS bien definidos, y están en la frontera entre ritmos ventriculares y no ventriculares. Los segmentos shockables errados corresponden a arritmias ventriculares de baja amplitud y/o frecuencia ventricular.

4. Discusión y conclusiones

Este trabajo presenta el primer abordaje, hasta donde los autores conocen, basado en aprendizaje profundo para la detección de arritmias ventriculares. Los métodos se han comparado con las soluciones más avanzadas propuestas hasta el momento en base a la extracción de características y métodos de aprendizaje automático [3]. El abordaje basado en aprendizaje profundo proporcionó mejores resultados que el basado en aprendizaje automático, especialmente para segmentos de 4-seg. Esto es relevante teniendo en cuenta que: (1) los métodos de aprendizaje profundo tratan la señal ECG directamente sin concepciones a priori sobre las características de las arritmias a discriminar, y (2) los resultados de partida proporcionaban ya valores de precisión cercanos o por encima del 99%. Así, por ejemplo, con segmentos de 4-seg se pasa de una precisión del 98.89% a 99.22% que se corresponde con eliminar un 29.7% de los errores cometidos por el sistema clásico basado en aprendizaje automático.

Nuestro trabajo incide en la línea de algunos resultados publicados en los últimos años, que muestran el potencial de los métodos de aprendizaje profundo en problemas de clasificación de señales biomédicas unidimensionales, como el ECG. Así existen ya propuestas de clasificadores de arritmias que mejoran el desempeño de clínicos especialistas [7], o clasificadores de latidos de alta precisión [6]. Se ha conseguido en este trabajo un primer algoritmo de aprendizaje profundo que puede implementarse en un desfibrilador para la detección precisa de la FV.

Este trabajo tiene dos limitaciones importantes. La primera es que, aunque el número de segmentos empleados es muy grande, los registros provienen de pocos pacientes. Esta limitación es común a los estudios basados en bases de datos públicas [3-5], ya que existen pocos casos con arritmias ventriculares a pesar de disponer de segmentos largos de señal (varios minutos de FV). La segunda es que los resultados no se han obtenido para pacientes en PCREH, ya que las bases públicas se obtuvieron de pacientes con un Holter, en situaciones intrahospitalarias. En los pacientes PCREH, los ritmos observados por el desfibrilador ocurren 5-10 minutos después de haberse producido la parada, a la llegada de los servicios de emergencias. Esto tiene implicaciones importantes en el diseño de los clasificadores [3], ya que las características de los ritmos observados pueden ser considerablemente distintas [3].

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad mediante el proyecto TEC2015-64678R junto con el Fondo Europeo de

Desarrollo Regional (FEDER), así como por la UPV-EHU mediante el proyecto EHU16/18.

Referencias

- [1] Rosell-Ortiz F et al. Out-of-hospital cardiac arrest (OHCA) attended by mobile emergency teams with a physician on board. Results of the Spanish OHCA Registry (OSHCAR). *Resuscitation*, vol 113, 2017, pp 90-5.
- [2] Kerber R et al. Automatic External Defibrillators for Public Access Defibrillation: Recommendations for Specifying and Reporting Arrhythmia Analysis Algorithm Performance, Incorporating New Waveforms and Enhancing Safety. *Circulation*, vol 95 (6), 1997, pp 1677-81.
- [3] Figuera C, Irusta U, Morgado E, Aramendi E, Ayala U, Wik L, Kramer-Johansen J, Eftestol T. Machine Learning Techniques for the Detection of Shockable Rhythms in Automated External Defibrillators. *PLoS ONE*, 11 (7), 2016; e0159654.
- [4] Amman A, Tratnig R, Unterkofler K. Reliability of old and new ventricular fibrillation detection algorithms for automated external defibrillators. *Biomed Eng Online*, 4 (60), 2005.
- [5] Li Q, Clifford GD. Ventricular fibrillation and tachycardia classification using a machine learning approach. *IEEE Trans Biomed Eng*, 61 (6), 2014, pp 1607-13.
- [6] Kiranyaz S, Ince T, Gabbouj M. Real-Time Patient-Specific ECG Classification by 1-D Convolutional Neural Networks. *IEEE Trans Biomed Eng*, 63 (3), 2016, pp 664-75.
- [7] Rajpurkar P, Hannun AY, Haghpanahi M, Bourm C, Ng AY. Cardiologist-Level Arrhythmia Detection with Convolutional Neural Networks. *arXiv: 1707.01836*, 2017.
- [8] Goldberger et al. PhysioBank, PhysioToolkit, and PhysioNet: Components of a New Research Resource for Complex Physiologic Signals. *Circulation*, 101(23), 2000, pp e215-e220.
- [9] Lake DE, Richman JS, Griffin MP, Moorman JR. Sample entropy analysis of neonatal heart rate variability. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 283(3), 2002, pp R789-797.
- [10] Ayala U, Irusta U, Ruiz J, Eftestol T, Kramer-Johansen J, Alonso-Atienza F, Alonso E, González-Otero D. A reliable method for rhythm analysis during cardiopulmonary resuscitation. *Biomed Res Int*, 2014:872420.
- [11] Irusta U, Ruiz J, Aramendi E, Ruiz de Gauna S, Ayala U, Alonso E. A high-temporal resolution algorithm to discriminate shockable from nonshockable rhythms in adults and children. *Resuscitation*, 83(9), 2012, pp 1090-7.
- [12] Li Y, Bisera J, Weil MH, Tang W. An Algorithm Used for Ventricular Fibrillation Detection Without Interrupting Chest Compression. *IEEE Trans Biomed Eng*, 59(1), 2012, pp 78-86.

Predicción del éxito de la desfibrilación mediante entropía difusa en términos de recuperación de ritmo cardíaco regular, pulso y supervivencia

B. Chicote Gutiérrez¹, U. Irusta Zarandona¹, E. Aramendi Ecenarro¹, K. Ibarguren Olalde², D. Alonso Moreno², J. Veintemillas Vidal², C. Corcuera Bergado², M. Vaqueriza Iturriza², F. Vicente Casanova²

¹ BioRes, Dpto. de Ingeniería de Comunicaciones, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Bilbao, España, {beatriz.chicote,unai.irusta,elisabete.aramendi}@ehu.eus

² Emergentziak-Osakidetza, Servicio Vasco de Salud (Osakidetza), Bilbao, España, {carlosjose.ibargurenolalde, danielfrancisco.alonsomoreno, josefrancisco.veintemillasvidal, carlos.corcuerabergado, mariadelmar.vaquerizaiturriza, fernando.vicentecasanova}@osakidetza.eus

Resumen

El objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad predictiva de la entropía difusa (FuzzEn) para la predicción del éxito de la desfibrilación definida de tres formas diferentes: recuperación de ritmos con QRS, retorno de la circulación espontánea (RCE) y supervivencia del paciente. Se han analizado 450 descargas de 174 episodios de parada cardiorrespiratoria extrahospitalaria (PCREH). FuzzEn se calculó tomando 5-seg de fibrilación ventricular (FV) previos a la descarga. Se evaluó la capacidad de predicción en términos de área bajo la curva (AUC), para las primeras tres descargas. Para ello se ajustó un clasificador basado en regresión logística usando una partición 60/40 por pacientes para ajustar el modelo (desarrollo) y evaluar el AUC (validación). Los valores de AUC obtenidos para predicción de aparición de ritmos con QRS y supervivencia para las tres primeras descargas fueron: 0.81/0.70, 0.84/0.87 y 0.95/0.95, respectivamente. FuzzEn permite predecir la supervivencia del paciente y la predictibilidad mejora en descargas sucesivas.

1. Introducción

Dos factores importantes para la supervivencia del paciente durante la parada cardiorrespiratoria extrahospitalaria (PCREH) son la desfibrilación, mediante una descarga eléctrica y la resucitación cardiopulmonar (RCP) de calidad sin interrupciones. De acuerdo con las normas del Consejo Europeo de Resucitación, la desfibrilación eléctrica durante los primeros 3-5 minutos de la parada cardíaca produce unas tasas de supervivencia alrededor del 50-70% [1]. Sin embargo, también destaca como la RCP de calidad y sin interrupciones es vital para la supervivencia de los pacientes ya que las interrupciones innecesarias durante las compresiones torácicas e intentos de desfibrilación no exitosos, producen daño en el miocardio [2] y hacen que las probabilidades de supervivencia del paciente disminuyan. Por ello, predecir el éxito de la desfibrilación, permitiría desfibrilar al paciente únicamente cuando exista una alta probabilidad de que sea exitosa, sin tener que interrumpir la RCP.

Para ello, en los últimos años se han propuesto diferentes parámetros predictores del éxito de la desfibrilación (PED) principalmente basados en el análisis del electrocardiograma (ECG) de la forma de onda de la fibrilación ventricular (FV) [3-4] antes de la descarga, caracterizando las formas de onda de la señal en

diferentes dominios [5]. Estos parámetros PED son capaces de predecir el resultado de la desfibrilación con unas precisiones en torno al 80-90% [6] de manera no invasiva, únicamente mediante el análisis de las señales de las que dispone el desfibrilador. Entre los numerosos parámetros PED, la entropía difusa (Fuzzy Entropy, FuzzEn) se ha mostrado recientemente como uno de los de mayor precisión [7].

En la literatura se considera como una desfibrilación exitosa aquella cuyo ritmo posterior a la desfibrilación presenta complejos QRS sostenidos (frecuencia > 30 min⁻¹) en los primeros 60 segundos [6]. Los parámetros PED predicen el retorno de ritmos con QRS sostenidos que en muchos casos son ritmos sin perfusión. Así, muchas de estas desfibrilaciones exitosas no terminan en retorno de la circulación espontánea (RCE), que supone el traslado e ingreso hospitalario y aún menos en supervivencia del paciente. Parece razonable por lo tanto redefinir el éxito de la desfibrilación según el resultado clínico, bien sea en términos de ingreso hospitalario (RCE) o alta hospitalaria (supervivencia). En un principio se puede abordar la predicción de dichas situaciones en base al análisis de la forma de onda de la FV antes de la descarga(s) de desfibrilación, tal y como se hace para la predicción de la aparición de ritmos con QRS. Por ello, el objetivo de este trabajo es evaluar la capacidad predictiva de FuzzEn, para la predicción del éxito de la desfibrilación definida de tres formas diferentes: recuperación de ritmos con QRS, RCE y supervivencia del paciente.

2. Materiales y Métodos

2.1. Recopilación y anotación de datos

La base utilizada en este estudio se compone de 174 casos de PCREH, así como de datos asociados a la parada y a la intervención de los servicios de emergencias recogidas en el formato estándar Utstein [8-9]. Los pacientes fueron atendidos por los servicios de Soporte Vital Básico (SVB) del servicio de Emergencias del Servicio Vasco de Salud (Emergentziak-Osakidetza), entre enero del 2013 y junio del 2015. El servicio de Emergencias cuenta con un sistema de dos niveles, en el que el SVB suele ser el primero en acudir al escenario y los pacientes son tratados

con desfibriladores automáticos externos (DEA). Los DEAs empleados para la obtención de estos registros fueron: LP1000 (Physio-Control), AED Pro (Zoll) y FR2 (Philips). La resolución de amplitud y la frecuencia de muestreo para el electrocardiograma (ECG) en estos equipos es: 4.8/4.8/2.5 μV y 125/250/200 Hz, respectivamente. Haciendo uso del software propio de cada fabricante, se extrajo la información de las señales para su posterior conversión a un formato común de Matlab, y se remuestreó el ECG a 250 Hz.

Para identificar los instantes en los que las descargas habían sido dadas, se utilizaron los mensajes propios de los DEAs. Extrayendo 30 segundos de la señal ECG previos a las descargas para el análisis y 70 segundos posteriores a las descargas para anotar la aparición de ritmos con complejos QRS sostenidos. Se consideraron ritmos con QRS sostenidos aquellos que tradicionalmente son asociados a una descarga exitosa, es decir, presentaron frecuencias $>30\text{min}^{-1}$ en los primeros 60 segundos tras la descarga [6]. Aquellas descargas en las que no había señal, el ritmo resultante era imposible de anotar, había ruido antes de la descarga o el análisis se había realizado durante compresiones, fueron descartadas. Tras la revisión de todas las descargas, se obtuvo una base de datos de 450 descargas de 174 pacientes, de las cuales 98 resultaron en ritmos con QRS, y 352 en ritmos sin QRS. A su vez de los informes Utstein se extrajo la información sobre el RCE (no se conoce el instante en el que se recupera) y la supervivencia. Todos estos datos se resumen en la Tabla 1.

Criterio	Descarga		
	1	2	3
QRS	43/129	24/73	7/52
RCE	64/108	30/67	15/44
Supervivencia	23/149	11/86	5/54

Tabla 1. Desglose de la base de datos con el número de descargas exitosas/no exitosas de acuerdo a las tres definiciones, para las tres primeras descargas.

Para el cálculo del PED se analizaron segmentos de 5

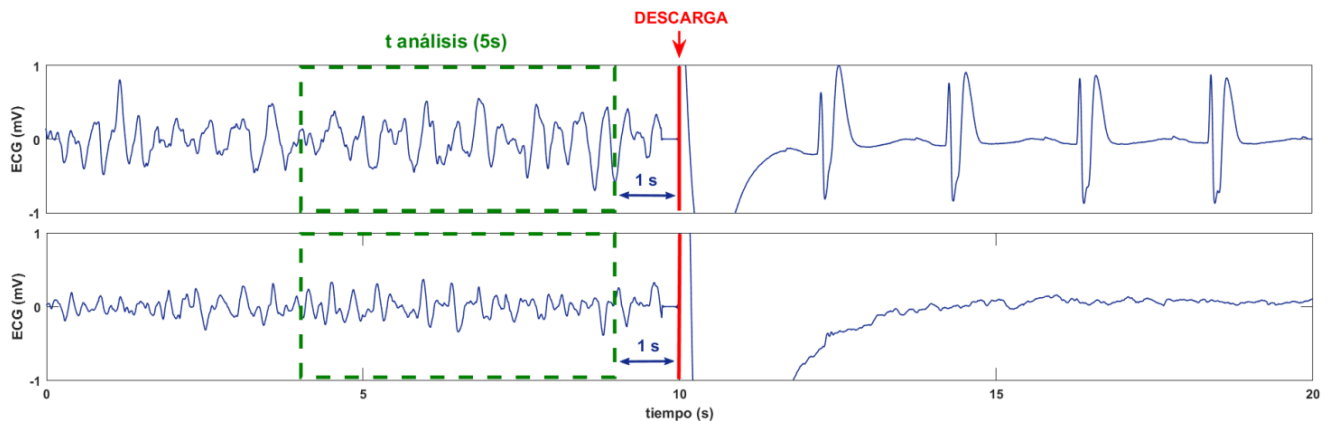


Figura 1. Ejemplos de señales ECG correspondientes a una descarga que produce un ritmo con complejos QRS (superior), o un ritmo sin complejos QRS (inferior). En el segundo caso la descarga produce un deterioro del ritmo resultando en asistolia (ausencia de actividad eléctrica).

segundos de FV previos a la descarga, dejando un segundo de guarda entre el final del tiempo de análisis y la descarga, tal y como muestra la Fig. 1. El segmento de señal FV fue filtrado mediante un filtro elíptico pasobanda de orden ocho en la banda típica de los DEA (0.5-30 Hz), con 1dB de rizado de banda de paso y 30dB de atenuación en la banda de rechazo.

Como parámetro predictor se implementó la medida de entropía FuzzEn [7], que mide la regularidad de series temporales finitas. Para ello, la serie temporal $X(n)$ de N muestras se descompone en $i = 1, \dots, N - m + 1$ vectores de tamaño m y se resta la línea base de cada vector para centrarse en las características locales de la serie temporal se obtiene:

$$X_m(i) = \{X(i), X(i+1), \dots, X(i+m-1)\} - \frac{1}{m} \sum_{l=0}^{m-1} X(i+l) \quad (1)$$

Para cada pareja de vectores $X_m(i)$ y $X_m(j)$ con $i \neq j$ se calculó la distancia Chebyshev y grado de similitud entre ellos:

$$d_{ij}^m = \max_{k=0, \dots, m-1} (|X(i+k) - X(j+k)|) \quad (2)$$

$$D_{ij}^m(n, r) = \exp((-d_{ij}^m)^n / r) \quad (3)$$

Donde n es el paso de la función exponencial y r es la tolerancia máxima para considerar que dos secuencias son similares. A continuación, para $X_m(i)$, se calculó la probabilidad de que dos vectores de longitud m coincidan con tolerancia r :

$$\phi^m(n, r) = \frac{1}{N-m} \sum_{i=1}^{N-m} \left(\frac{1}{N-m-1} \sum_{j=1, j \neq i}^{N-m} D_{ij}^m(n, r) \right) \quad (4)$$

De manera similar, para vectores de longitud $m+1$, sustituyendo m por $m+1$ en las ecuaciones previas se obtiene:

$$\phi^{m+1}(n, r) = \frac{1}{N-m} \sum_{i=1}^{N-m} \left(\frac{1}{N-m-1} \sum_{j=1, j \neq i}^{N-m} D_{ij}^{m+1}(n, r) \right) \quad (5)$$

Finalmente, se obtiene FuzzEn como el logaritmo natural negativo de la desviación de ϕ^m respecto a ϕ^{m+1} :

$$\text{FuzzEn}(m, n, r, N) = \ln \phi^m(n, r) - \ln \phi^{m+1}(n, r) \quad (6)$$

FuzzEn se calculó para $n=2$, $m=3$ y $r=80 \mu V$, siendo estos los valores óptimos para el uso de FuzzEn

2.2. Análisis

Se compararon los valores de FuzzEn de la FV para las tres primeras descargas de cada paciente. No se consideraron más descargas por paciente ya que el número de pacientes se reducía considerablemente.

Las distribuciones de FuzzEn para descargas exitosas y no exitosas (tres criterios: recuperación de ritmos con QRS, RCE y supervivencia del paciente) se compararon mediante el test de Mann-Whitney ya que no pasaron el test de normalidad de Kolmogorov-Smirnov. Las diferencias se consideraron significativas para $p<0.001$.

En la predicción del éxito de desfibrilación se toman las descargas exitosas como positivos y las no exitosas como negativos. Se evaluó la capacidad predictiva de FuzzEn para cada descarga. Se evaluaron también dos modelos predictivos basados en las siguientes variables: FuzzEn en la segunda descarga y su variación respecto de la primera descarga (modelo 1), y el modelo 1 pero para la tercera descarga (modelo 2). Estos modelos combinan la información de la descarga actual y el estado inicial (descarga 1).

Para evaluar la capacidad predictiva se desarrolló un clasificador basado en regresión logística y se calculó el área bajo la curva (AUC) del análisis de curva ROC. Para ello se particionó la base de datos por pacientes en un 60% para desarrollar los modelos y un 40% para obtener el AUC. El proceso se repitió 100 veces con particiones aleatorias para estimar la distribución estadística del AUC.

3. Resultados

Las distribuciones de FuzzEn para descargas exitosas y no exitosas en las tres primeras descargas se comparan en la Figura 2 para los tres criterios de éxito de desfibrilación.

Tal y como se observa en la figura el valor de FuzzEn decrece con el tiempo (número de descarga) para descargas no exitosas. Las diferencias son significativas para las tres definiciones de éxito en todas las descargas. A pesar del bajo número de casos, se observa que las diferencias son mayores y aumentan con el tiempo cuando se define el éxito en términos de supervivencia.

La tabla 2 muestra, para las tres definiciones de descarga exitosa, los valores de AUC obtenidos para las tres primeras descargas y para los dos modelos predictivos en términos de mediana y rango intercuartílico.

En cuanto a la evolución del AUC en función del número de la descarga, se observa que tanto en términos de QRS

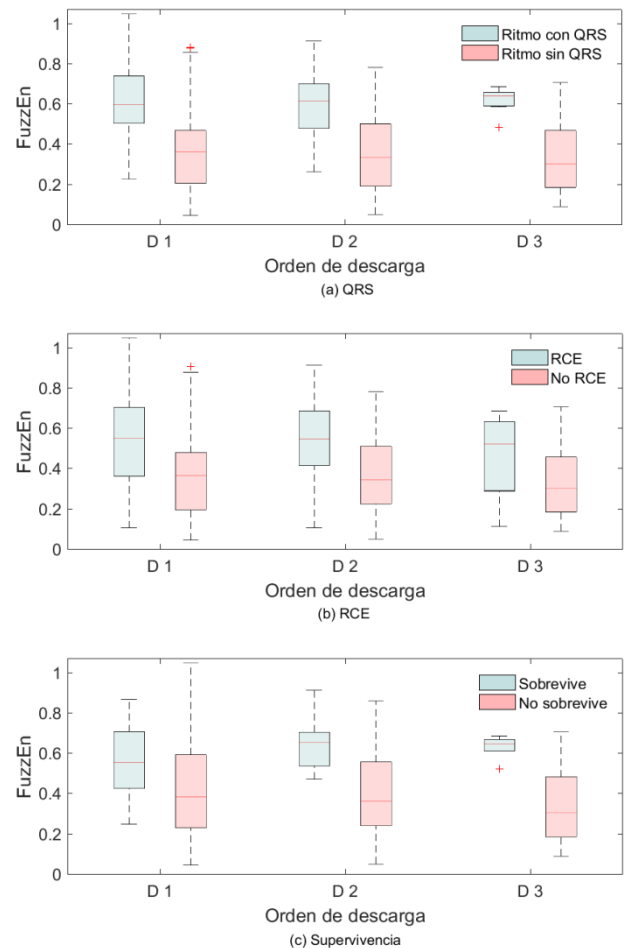


Figura 2. Distribuciones de FuzzEn para descargas exitosas y no exitosas, de acuerdo a los tres criterios definidos. En todos los casos las distribuciones presentan medianas diferentes, $p<0.001$.

(de 0.81 a 0.95) como de supervivencia (de 0.70 a 0.95) el AUC aumenta en descargas sucesivas, no así cuando el éxito se define en términos de RCE (en torno a 0.70). En cuanto a los valores de AUC tras aplicar un modelo de regresión logística con ambos modelos (conjuntos de variables) y las tres definiciones de éxito, salvo para la definición de éxito como RCE, se observa que la predicción mejora en sucesivas descargas. Sin embargo, tal y como se puede ver en la tabla, el añadir información de descargas anteriores empeora los resultados de discriminación respecto al uso únicamente de la descarga actual, obteniéndose unos valores de AUC inferiores.

4. Discusión y conclusiones

Existen numerosos parámetros PED basados en el análisis del ECG de la forma de onda de la FV que predicen la recuperación de ritmos con QRS sostenidos. Entre ellos

Criterio	D1	D2	Mod.1	D3	Mod.2
QRS	0.81(0.78-0.84)	0.84(0.80-0.90)	0.82 (0.77-0.86)	0.95(0.91-0.97)	0.90 (0.85-0.95)
RCE	0.70(0.66-0.73)	0.73(0.68-0.78)	0.69 (0.63-0.73)	0.70(0.62-0.80)	0.66 (0.58-0.72)
SUP	0.70(0.64-0.75)	0.87(0.83-0.90)	0.82 (0.77-0.88)	0.95(0.93-0.99)	0.95 (0.82-0.95)

Tabla 2. AUC obtenido para cada descarga (D1, D2 y D3) y para los dos modelos predictivos (Mod.1, Mod.2) propuestos para las tres definiciones de descarga exitosa en términos de mediana (1ºcuartil-3ºcuartil).

FuzzEn destacaba como uno de los más precisos [7]. Sin embargo, no se conoce en qué medida la aparición de ritmos QRS tras la descarga permite predecir el RCE, y menos aún la supervivencia del paciente. Este estudio analiza por primera vez la capacidad predictiva de FuzzEn en términos de RCE y supervivencia. Se ha observado que la predicción de RCE es peor que la de la aparición de ritmos con QRS y de supervivencia. Existen varios casos en nuestros datos en los que descargas que no producen ritmos con QRS resultan finalmente en retorno de pulso en el paciente. Esto se debe a que nuestros datos analizan el inicio de la PCREH, ya que abarcan el periodo de actuación del SVB. Así, el RCE puede producirse durante la parada tanto por las descargas del soporte vital avanzado (SVA), como por terapias farmacológicas administradas por el SVA. Sin embargo, los resultados de predicción de ritmos con QRS al inicio y de supervivencia son muy parejos, indicando que el inicio del tratamiento por el SVB es probablemente determinante en la supervivencia del paciente. De hecho solo un 30% de los pacientes que recuperan pulso e ingresan al hospital finalmente sobreviven [10].

Se ha observado que la capacidad predictiva de FuzzEn aumenta cuando se realizan descargas sucesivas, y que el valor de FuzzEn en descargas anteriores no influye en la descarga actual. Son varios los factores a considerar, ya que, por un lado descargas anteriores no exitosas condicionan negativamente futuras descargas, pero por otro lado, la RCP eficiente entre descargas mejora la perfusión coronaria.

La información de FuzzEn como predictor de ritmos con QRS y de la supervivencia del paciente en episodios PCREH podría resultar de interés tanto para los protocolos clínicos como para los DEAs actuales. Ya que aportaría información al rescatador del instante óptimo de desfibrilación, evitando descargas innecesarias e interrupciones durante la RCP y además podría evitar intervenciones innecesarias en casos en los que la probabilidad de supervivencia del paciente sea prácticamente nula.

Las limitaciones fundamentales del presente estudio son dos. Por un lado, el bajo número de supervivientes, en línea con lo observado cuando el SVB es el primer recurso en escena [10]. Por otro, no se dispone de las señales una vez que el SVA toma el control de la intervención, por lo que no se puede analizar el éxito de descargas sucesivas ni cuantificar FuzzEn a partir de dicho punto.

Agradecimientos

Este trabajo ha recibido apoyo económico conjunto del Ministerio de Economía y Competitividad Español y del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) a través del proyecto TEC2015-64678-R, y por la Universidad del País Vasco a través de la beca predoctoral PIF15/190 y

del proyecto EHU16/18 y de la unidad de investigación UFI11/16.

Referencias

- [1] Perkins, Gavin D et al. European resuscitation council guidelines for resuscitation 2015, *Journal Resuscitation*, vol. 95, 2015, pp. 81-99.
- [2] Yamaguchi, Hitoshi et al. Myocardial dysfunction after electrical defibrillation, *Resuscitation*, vol. 54, 2002, pp. 289-296.
- [3] Callaway CW, Menegazzi JJ. Waveform analysis of ventricular fibrillation to predict defibrillation, *Curr Opin Crit Care*, vol. 11, 2005, pp. 192-199.
- [4] Indik JH et al. Utility of the Ventricular Fibrillation Waveform to Predict a Return of Spontaneous Circulation and Distinguish Acute From Post Myocardial Infarction or Normal Swine in Ventricular Fibrillation Cardiac Arrest, *Circ Arrhythm Electrophysiol*, vol. 4, no.3, 2011, pp. 337-343.
- [5] R. Firoozabadi, M. Nakagawa, E. D. Helfenbein y S. Babaeizadeh. Predicting defibrillation success in sudden cardiac arrest patients, *Electrocardiology*, vol. 46, no. 6, 2013, pp. 473-479.
- [6] G. Ristagno, T. Mauri, G. Cesana, Y. Li, A. Finzi, F. Fumagalli, G. Rossi, N. Grieco, M. Migliori, A. Andreassi, R. Latini, C. Fornari y A. Pesenti. Amplitude Spectrum Area to Guide Defibrillation, *Resuscitation Science*, vol. 131, 2015, pp. 478-487.
- [7] B. Chicote, U. Irusta, R. Alcaraz, JJ. Rieta, E. Aramendi, I. Isasi, D. Alonso, K. Iburguren. Application of Entropy-Based Features to Predict Defibrillation Outcome in Cardiac Arrest, *Entropy*, vol.18, no. 9, 2013, pp.313.
- [8] R. Cummins, D. Chamberlain and N. Abramson. Recommended guidelines for uniform reporting of data from out-of-hospital cardiac arrest: the Utstein Style: a statement for health professionals from a Task Force of the American Heart Association, the European Resuscitation Council, the Heart and Stroke, *Circulation*, no. 84, 1991, pp. 960-975.
- [9] Jacobs, Ian et al. Cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation outcome reports: update and simplification of the Utstein templates for resuscitation registries, *Resuscitation*, no.3, 2004, pp.233-249.
- [10] K. Iburguren, JM. Unanue, D. Alonso, I. Vaqueriza, U. Irusta, E. Aramendi, B. Chicote. Difference in survival from pre-hospital cardiac arrest between cities and villages in the Basque Autonomous Community, *Resuscitation*, vol.96, 2015, pp.114.

Solución Multietapa para Diagnóstico del Ritmo Cardíaco durante la Resucitación Cardiopulmonar

I. Isasi Liñero¹, U. Irusta Zarandona¹, E. Aramendi Ecenarro¹, U. Ayala Fernández²,
E. Alonso González³

¹ Ingeniería de Comunicaciones, Universidad del País Vasco, Bilbao, España, {iraia.isasi, unai.irusta, elisabete.aramendi}@ehu.eus

² Procesado de señal y comunicaciones, Universidad de Mondragón, Arrasate, España, {uayala}@mondragon.edu

³ Matemáticas aplicadas, Universidad del País Vasco, Bilbao, España, {erik.alonso}@ehu.eus

Resumen

Las compresiones torácicas durante la terapia de resucitación cardiopulmonar (RCP) inducen artefactos en el ECG comprometiendo el diagnóstico de los algoritmos de análisis de ritmo. El objetivo de este trabajo es diseñar un método que diagnostique con precisión el ritmo durante la RCP evitando así tener que interrumpir la terapia. Para ello se diseñó un algoritmo multi-etapa (AME) que incluye dos filtros para la supresión del artefacto basados en un algoritmo recursivo de mínimos cuadrados (RLS), el algoritmo de análisis de ritmo de un desfibrilador comercial y un clasificador de ritmos basado en la pendiente del ECG. Se usó una base de datos compuesta por 87 ritmos desfibrilables y 285 no-desfibrilables adquiridos de pacientes en parada cardiorrespiratoria extra-hospitalaria. Para la optimización y validación de la solución AME los datos se dividieron aleatoriamente por pacientes en un conjunto de entrenamiento (70%) y otro de prueba (30%). Este proceso se repitió 500 veces para estimar la distribución estadística de la sensibilidad (Se), especificidad (Sp) y precisión (Acc) de la solución AME. Los valores medios (desviación estándar) de Se, Sp y Acc fueron 92.1% (6.0), 92.4% (2.9) y 92.2% (3.0), respectivamente. La solución mejora resultados anteriores por hasta 5 puntos de precisión.

1. Motivación

La desfibrilación precoz y la resucitación cardiopulmonar (RCP) son críticas para la supervivencia del paciente en parada cardiorrespiratoria extra-hospitalaria [1]. La actividad mecánica de las compresiones torácicas durante la RCP induce artefactos en el electrocardiograma (ECG). El artefacto RCP compromete la capacidad de detección de ritmos desfibrilables (sensibilidad) y no-desfibrilables (especificidad) de los algoritmos de análisis de ritmo. Por lo tanto, utilizando los desfibriladores actuales, es necesaria la interrupción de las compresiones para un análisis fiable del ECG. Desafortunadamente, estas interrupciones en la terapia comprometen el mantenimiento de un estado circulatorio adecuado en el paciente reduciendo la probabilidad de una reanimación exitosa [2].

A pesar de que se han propuesto soluciones para analizar el ritmo durante las pausas en las compresiones [3], las estrategias para minimizar los intervalos “hands-off” se han centrado principalmente en filtros adaptativos que eliminan el artefacto RCP. Algunos de estos filtros

adaptativos se basan únicamente en el ECG para caracterizar y suprimir el artefacto [4], mientras que otros utilizan señales adicionales correlacionadas con el artefacto tales como: la impedancia torácica, la profundidad de compresión o la fuerza de compresión [5]. Dada la naturaleza casi-periódica del artefacto, se han propuesto también soluciones adaptativas que estiman un modelo del artefacto basado en series de Fourier de coeficientes tiempo-variantes [6,7]. Existen también algoritmos de diagnóstico ad-hoc que diagnostican el ECG corrupto o filtrado [8]. Estas técnicas resultan en sensibilidades aceptables, pero la especificidad sigue por debajo de los valores exigidos por la American Heart Association en intervalos sin artefacto [9,10].

En este estudio se analiza un algoritmo multi-etapa (AME) basado en un filtro recursivo de mínimos cuadrados (RLS, recursive least-squares) que tiene como objetivo suprimir el artefacto RCP para permitir un análisis fiable del ritmo.

2. Materiales y métodos

2.1. Recopilación y anotación de datos

El conjunto de datos utilizado en este trabajo fue extraído de un estudio prospectivo de pacientes en parada cardiorrespiratoria extra-hospitalaria. Los episodios fueron grabados en tres zonas geográficas (Akershus, Estocolmo, Londres) entre Marzo de 2002 y Septiembre de 2004. Las señales de ECG y de profundidad de compresión adquiridas mediante una versión modificada del desfibrilador Heartstart 4000 de Laerdal fueron exportadas a Matlab y remuestreadas a 250 Hz. Los instantes de las compresiones se detectaron automáticamente en la señal de profundidad usando un detector de picos negativos con umbral en -1.5 cm [7].

La base de datos del estudio consta de 372 segmentos de 31 s de duración pertenecientes a 295 pacientes. Los primeros 15.5 s incluyen compresiones (RCP) y se utilizaron para evaluar la supresión del artefacto. Los últimos 15.5 s, sin compresiones, fueron usados por clínicos especialistas para anotar el ritmo. En la Figura 1 se muestra un ejemplo de las señales de la base. La base de datos se compone de 87 ritmos desfibrilables y 285 no-

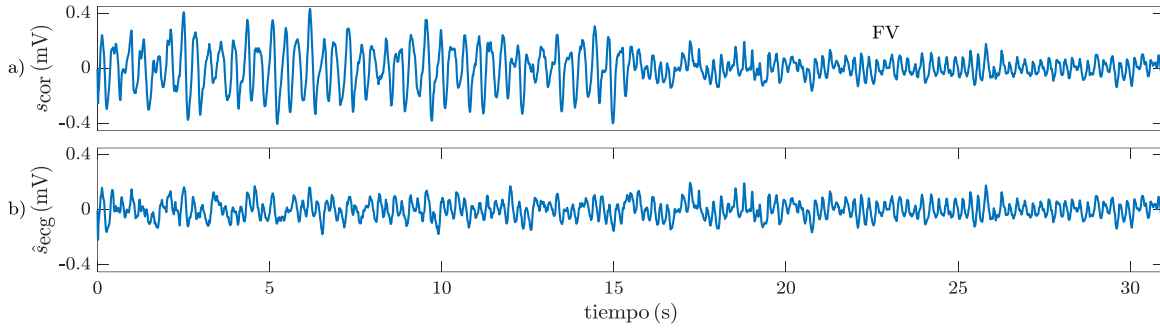


Figura 1. Un episodio de 31 s de duración de un paciente en fibrilación ventricular (FV), antes del filtrado (a) y después del filtrado (b). Los primeros 15.5 s muestran el ECG durante las compresiones. Los últimos 15.5 s muestran el ritmo subyacente del paciente en un intervalo sin compresiones. El panel b) muestra como el filtrado revela la FV del paciente.

desfibrilables. De los ritmos desfibrilables 5 son taquicardias ventriculares y 82 fibrilaciones ventriculares (FV). Los ritmos no-desfibrilables se componen de 88 asistolias (AS) y 197 organizados (OR). Los detalles sobre la base de datos se describen en [6].

2.2. Modelado del artefacto

El artefacto RCP en el ECG suele modelarse como ruido aditivo:

$$s_{\text{cor}}(n) = s_{\text{ecg}}(n) + s_{\text{ct}}(n) \quad (1)$$

donde s_{cor} es el ECG corrupto por el artefacto, s_{ct} , y s_{ecg} es el ECG que refleja el ritmo subyacente del paciente

Asumimos que durante las compresiones el artefacto, s_{ct} , puede modelarse como una interferencia casi-periódica compuesta por N armónicos de frecuencia fundamental variable $f_0(n)$, correspondiente a la frecuencia de las compresiones:

$$s_{\text{ct}}(n) = A(n) \sum_{k=1}^N c_k(n) \cos(k\omega_0(n)n + \theta_k(n)) = \quad (2)$$

$$= \sum_{k=1}^N a_k(n) \cos(k\omega_0(n)n) + b_k(n) \sin(k\omega_0(n)n) \quad (3)$$

donde $\omega_0(n) = 2\pi f_0(n)T_s$, T_s es el periodo de muestreo, $A(n)$ es una envolvente de amplitud que diferencia intervalos con compresiones ($A = 1$) e intervalos sin compresiones ($A = 0$). La amplitud y fase, $c_k(n)$ y $\theta_k(n)$, o las amplitudes en fase y cuadratura, $a_k(n)$ y $b_k(n)$, de la descomposición en serie de Fourier se consideran variables en el tiempo.

Asumimos que durante un ciclo la frecuencia de las compresiones, $f_0(n)$, es constante pero que varía de ciclo a ciclo, entendiendo como ciclo el intervalo entre dos compresiones consecutivas. Por lo tanto, para una serie de instantes de compresiones t_i , la frecuencia de las compresiones se puede calcular como:

$$f_0(n) = \frac{1}{t_i - t_{i-1}} \quad t_{i-1} < nT_s \leq t_i \quad (4)$$

2.3. Filtro RLS

Para suprimir el artefacto RCP se propone un esquema adaptativo de cancelación de interferencia utilizando como señal de referencia el modelo multiarmónico del artefacto [11]. Las amplitudes $a_k(n)$ y $b_k(n)$ de cada armónico se estiman mediante un filtro adaptativo RLS que es capaz de adaptarse a las características variables de cada señal. Primero, se definen los vectores para los coeficientes y las señales de referencia de los N armónicos:

$$\theta_n = [a_1(n) \ b_1(n) \ \dots \ a_N(n) \ b_N(n)]^T \quad (5)$$

$$\Phi_n = A(n) [\cos(\omega_0(n)n) \ \sin(\omega_0(n)n) \ \dots \ \cos(N\omega_0(n)n) \ \sin(N\omega_0(n)n)]^T \quad (6)$$

El artefacto estimado, \hat{s}_{ct} , se puede expresar en notación vectorial, por tanto, como:

$$\hat{s}_{\text{ct}}(n) = \theta_{n-1}^T \Phi_n \quad (7)$$

Los coeficientes que modelan el artefacto se calculan de forma adaptativa, buscando en cada iteración minimizar el error entre el ECG corrupto, s_{cor} , y el artefacto estimado, \hat{s}_{ct} . El ECG estimado (señal de error del filtro RLS), y los coeficientes $a_k(n)$ y $b_k(n)$ se actualizan en cada iteración mediante las siguientes ecuaciones:

$$\hat{s}_{\text{ecg}}(n) = s_{\text{cor}}(n) - \hat{s}_{\text{ct}}(n) \quad (8)$$

$$\theta_n = \theta_{n-1} F_n \Phi_n^T \hat{s}_{\text{ecg}}(n) \quad (9)$$

donde,

$$F_n = \frac{1}{\lambda} \left[F_{n-1} - \frac{F_{n-1} \Phi_n \Phi_n^T F_{n-1}}{\lambda + \Phi_n^T F_{n-1} \Phi_n} \right] \quad (10)$$

El factor de olvido ($0 < \lambda < 1$) del filtro RLS es un compromiso entre la capacidad de adaptación y la estabilidad del filtro. Cuanto más alto sea el valor de λ , mejor será el ajuste y la estabilidad del filtro pero peor la capacidad de convergencia.

2.4. Análisis del ritmo

La clasificación de la señal filtrada en ritmo desfibrilable o no-desfibrilable se realiza combinando un algoritmo de

análisis de ritmo comercial y un algoritmo ad-hoc de discriminación FV/OR.

El algoritmo de análisis de ritmo es una versión offline de Matlab del algoritmo implementado en los desfibriladores Reanibex R-series (Bexen Cardio S.Coop., Ermua, Spain) [12]. Este algoritmo diagnostica el ECG libre de artefacto en menos de 9.6 s analizando 2 o 3 intervalos consecutivos de 3.2 s. Para evitar los transitorios del filtro RLS se diagnosticó el intervalo 5.9-15.5 s del ECG filtrado.

El algoritmo ad-hoc diseñado para la discriminación de ritmos OR y FV se basa en la pendiente del ECG filtrado. Para enfatizar complejos QRS en la señal filtrada se calcula la media móvil del cuadrado de su primera diferencia (pendiente):

$$d(n) = \frac{1}{M} \sum_{m=0}^{M-1} (\hat{s}_{ecg}(n-m) - \hat{s}_{ecg}(n-m-1))^2$$

donde M es el número de muestras en un intervalo de 80 ms. A continuación el parámetro $d(n)$ fue normalizado dividiéndolo por su valor máximo en la ventana de análisis (5.9-15.5 s), obteniendo así $\bar{d}(n)$. El parámetro de discriminación de los ritmos OR/FV (bS) se calculó como el décimo percentil de $\bar{d}(n)$. Los ritmos OR únicamente presentan valores elevados de pendiente alrededor de los complejos QRS, lo que supone valores bajos de bS. Por el contrario, los ritmos FV presentan pendientes uniformemente distribuidas, lo que proporciona valores elevados de bS.

2.5. Arquitectura de la solución AME

En la Figura 2 se puede observar la solución AME. Esta solución está compuesta por tres etapas y tiene como objetivo proporcionar una decisión desfibrilar/no-desfibrilar fiable durante la RCP.

La primera etapa está enfocada a la identificación de los segmentos AS. Para ello se realiza un filtrado RLS grueso de la señal ECG corrupta con $\lambda_1 \sim 0.99$ relativamente pequeño. Si el algoritmo de análisis de ritmo identifica el segmento filtrado como un ritmo no-desfibrilable el proceso termina, sino, se procede a la segunda etapa. En esta etapa se filtra el ECG corrupto con un valor $\lambda_2 \sim 0.999$ alto. De esta forma el filtro es capaz de preservar variaciones rápidas en el ECG como los complejos QRS. Por último, en la etapa 3, se discriminan los ritmos OR de los FV mediante el parámetro bS. El rendimiento de la solución puede optimizarse, por tanto, mediante cuatro parámetros: el orden del modelo del artefacto (N), los factores de olvido del filtro RLS (λ_1 y λ_2) y el umbral de ρ .

2.6. Evaluación

Los diagnósticos desfibrilar/no-desfibrilar obtenidos en la solución AME fueron comparados con las anotaciones de ritmo obtenidas en el intervalo limpio, calculando así: la proporción de segmentos desfibrilables (Se) y no-desfibrilables (Sp) correctamente clasificados, la proporción de diagnósticos correctos (Acc) y, por último,

la precisión balanceada (BAC, Balanced Accuracy) calculada como la media entre la Se y la Sp.

Los datos fueron divididos aleatoriamente en dos subconjuntos: el 70% de los pacientes fueron incluidos en el set de entrenamiento para la optimización de los parámetros y el 30% restante fue incluido en el set de prueba para calcular valores no sesgados de Se, Sp, BAC y Acc con los parámetros optimizados. El proceso de optimización constó de tres pasos: primero se determinaron los valores de N y λ_1 que maximizaban la BAC de la primera etapa mediante un greedy-search en los rangos $3 < N < 7$ y $0.98 < \lambda_1 < 0.99$. Después, se fijó el valor de λ_2 que maximizaba la Sp para los ritmos OR en el rango $0.995 < \lambda_2 < 1$. Por último, el valor de ρ se estableció como aquel que identificó el 97.5% de las FV en la etapa 3 sobre el subconjunto de prueba. Este proceso se repitió sobre 500 particiones aleatorias (sin solape de pacientes) para estimar la distribución estadística de las métricas de desempeño.

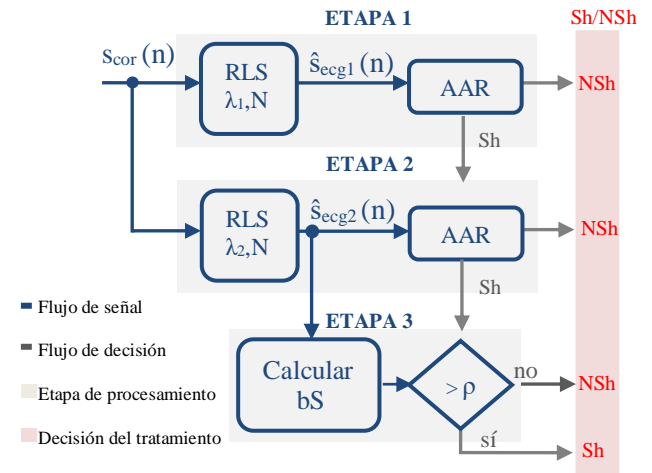


Figura 2. Arquitectura de la solución AME para el análisis de ritmo durante la RCP donde Sh hace referencia al diagnóstico desfibrilar, NSh al diagnóstico no-desfibrilar y AAR al algoritmo de análisis de ritmo.

3. Resultados

La Figura 3 muestra el BAC del algoritmo de análisis de ritmo tras aplicar el filtro RLS para distintos parámetros de configuración del mismo. Esto sería equivalente a usar solamente la primera etapa de la solución AME. Los mejores resultados se consiguieron para el siguiente rango de trabajo: $0.98 < \lambda < 0.99$ y $3 < N < 7$.

La Tabla 1 muestra las distribuciones estadísticas de Se, Sp, BAC y Acc para las 500 réplicas. Estos valores se reportan como media (desviación estándar). Todas las métricas fueron calculadas para las diferentes configuraciones de la solución AME, incluyendo la primera, segunda y tercera etapa. Los resultados fueron comparados con el rendimiento del algoritmo de análisis de ritmo antes del filtrado del artefacto.

Se observa que la primera etapa de la solución AME aumenta la BAC alrededor de 12 puntos. Con la adición de la segunda y tercera etapa, conseguimos un aumento en la BAC de 2.3 puntos y lo que es más importante, un

aumento en la Sp de 7.9 puntos. La tercera etapa proporciona un compromiso entre la Se y la Sp y un aumento de la Acc de más de 3 puntos.

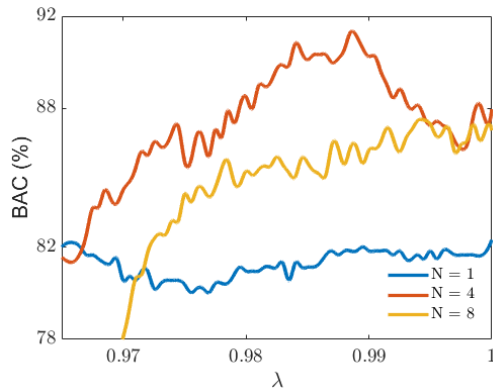


Figura 3. Rendimiento del filtro RLS en términos de N y λ .

Las medias (desviación estándar) de los parámetros óptimos conseguidos en las 500 réplicas del set de entrenamiento fueron las siguientes: $\lambda_1 = 0.987$ (0.002), $\lambda_2 = 0.998$ (0.002) y $\rho = 0.007$ (0.001). En más del 90% de los casos se consiguió un N de 4.

	Se (%)	Sp (%)	BAC (%)	Acc (%)
Sin filtrar	74.7	80.9	77.8	84.1
AME				
Etapa1	95.3 (4.0)	84.5 (3.4)	89.9 (2.7)	87.0 (2.8)
Etapa2	95.2 (4.0)	87.0 (3.5)	91.1 (2.7)	88.9 (2.8)
Etapa3	92.1 (6.0)	92.4 (2.9)	92.2 (3.0)	92.3 (2.3)

Tabla 1. Rendimiento de la solución AME comparado con el del algoritmo de análisis de ritmo antes del filtrado del artefacto.

4. Conclusión

En este trabajo se propone una solución AME novedosa que tiene como objetivo proporcionar un diagnóstico desfibrilar/no-desfibrilar fiable durante la RCP. Esta solución está compuesta por dos etapas de filtrado RLS y un algoritmo de discriminación FV/OR que tienen como objetivo incrementar la Sp. Así, la solución AME obtuvo una Se de 92.1%, una Sp de 92.4%, una BAC de 92.2% y una Acc de 92.3%.

A pesar de que la Se obtenida mediante la solución AME es considerablemente menor a la obtenida en estudios anteriores (96% aproximadamente), sigue estando por encima del 90% recomendado por la American Heart Association [10]. Reducir la Se ha permitido obtener un valor de Sp considerablemente mayor que los conseguidos en la literatura (<86%), obteniendo valores próximos al 95% recomendado por la American Heart Association. Por último, remarcar que la solución AME también mejora la precisión global de métodos anteriores en más de 5 puntos [12].

El método descrito podría abrir la posibilidad de diagnosticar el ritmo de forma fiable sin interrumpir la terapia RCP. No obstante, la solución AME requiere mejorar la Sp para proporcionar un diagnóstico fiable

ajustado a los requisitos de la American Heart Association. Una posible modificación de la solución AME para cumplir con estos requisitos podría ser reemplazar el algoritmo de análisis de ritmo comercial diseñado para clasificar ECGs sin artefacto por un algoritmo entrenado para clasificar el ECG una vez filtrado.

Agradecimientos

Este trabajo ha recibido ayuda financiera del Ministerio de Economía y Competitividad, proyecto TEC2015-64678-R, junto con el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). Ha recibido también financiación de la UPV/EHU mediante el proyecto EHU 16/18 y del Gobierno Vasco mediante la beca PRE-2016-1-0012.

Referencias

- [1] Perkins GD et al. European Resuscitation council guidelines for resuscitation 2015: Section 2. Adult basic life support and automated external defibrillation 2015. *Resuscitation*, vol 85, 2015, pp 81-89.
- [2] Eftestøl T et al. Effects of interrupting precordial compressions on the calculated probability of the defibrillation success during out-of-hospital cardiac arrest. *Circulation*, vol 105, pp 2270-2273.
- [3] Ayala U et al. Fully automatic rhythm analysis during chest compression pauses. *Resuscitation*, vol 89, 2015, pp 25-30.
- [4] Zhang G et al. A method to differentiate between ventricular fibrillation and asystole during chest compressions using artifact-corrupted ECG alone. *Computer Method and Programs in Biomedicine*, vol 141, 2017, pp 111-117.
- [5] Eilevstjønn J et al. Feasibility of shock advice analysis during CPR through removal of CPR artefacts from the human ECG. *Resuscitation*, vol 61, 2004, pp 131-141.
- [6] Aramendi E et al. Suppression of the cardiopulmonary resuscitation artefacts using the instantaneous chest coession rate extracted from the thoracic impedance. *Resuscitation*, vol 83, 2012, pp 692-698.
- [7] Irusta U et al. A least mean-square filter for the estimation of the cardiopulmonary resuscitation artifact based on the frequency of the compressions. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol 56, 2009, pp 1052-1062
- [8] Li Y et al. Identifying potentially shockable rhythms without interrupting cardiopulmonary resuscitation. *Critical care medicine*, vol 36, 2008, pp 198-203.
- [9] De Gauna S.R et al. Rhythm analysis during cardiopulmonary resuscitation: past, present, and future. *BioMed research international*, 2014.
- [10] Kerber R.E et al. Automatic external defibrillators for public access defibrillation: recommendations for specifying and reporting arrhythmia analysis algorithm performance, incorporating new waveforms, and enhancing safety. *Circulation*, vol 95, 1997, pp 1677-1682.
- [11] Xiao Y et al. Fast RLS Fourier analyzers capable of accommodating frequency mismatch. *Signal Processing*, vol 87, 2007, pp 2197-2212.
- [12] Irusta U et al. A high-temporal resolution algorithm to discriminate shockable from nonshockable rhythms in adults and children. *Resuscitation*, 2012, vol 83, pp 1090.

Potencial de la señal de capnografía para la detección de pulso durante la resucitación cardiopulmonar

A. Elola Artano, E. Aramendi Ecenarro, U. Irusta Zarandona, I. Alvarez Testillano, E. Alonso González

BioRes, Dpto. Ingeniería de Comunicaciones, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Bilbao, España.

aelola001@ikasle.ehu.eus

Resumen

La detección del pulso es necesaria tanto para identificar la parada cardiorrespiratoria como para reconocer el retorno de la circulación espontánea (RCE). A día hoy, tanto el personal médico como los rescatadores legos tienen dificultades para detectar el pulso, ya que la palpación en la carótida ha demostrado ser ineficiente. La señal de capnografía representa la presión parcial del dióxido de carbono (CO_2) exhalado por el paciente, y el nivel máximo durante la fase de expiración es conocido como End-tidal CO_2 ($EtCO_2$). Las últimas Guías de Resucitación proponen el incremento brusco del nivel de $EtCO_2$ como identificador de RCE, es decir, recuperación de pulso. En este trabajo se analizan los valores del $EtCO_2$ como discriminador de intervalos con y sin pulso. El valor absoluto del $EtCO_2$ muestra un AUC (Area Under the Curve) de 0.83, y el incremento de $EtCO_2$ un AUC de 0.89. Se concluye que valores de nivel de CO_2 medidos en el capnograma tienen potencial para detectar el pulso en pacientes en parada cardiorrespiratoria

1. Introducción

La muerte súbita cardíaca, causada por la parada cardiorrespiratoria, es una de las principales causas de mortalidad en los países industrializados. La detección del pulso es vital para reconocer la parada y para reconocer el retorno de la circulación espontánea (RCE) durante las maniobras de resucitación. La palpación en la carótida ha demostrado ser un método ineficiente y que consume tiempo, por lo que las guías de resucitación actuales recomiendan la observación continua del paciente como método de reconocimiento de ausencia de circulación espontánea. Este método no ha demostrado ser más eficiente que la palpación en la carótida, por lo que en la actualidad tanto rescatadores lego como profesionales médicos siguen teniendo dificultades para reconocer la ausencia de circulación espontánea.

Las últimas guías recomiendan la monitorización continua de la señal de capnografía, que representa la evolución temporal de la presión del dióxido de carbono (CO_2) exhalado por el paciente. En la Figura 1 se muestra un intervalo de capnograma, en el que se visualiza la evolución de los niveles de CO_2 durante dos ventilaciones. Puede observarse en cada una de ellas, la fase de insuflado de oxígeno (fase de inspiración) y la fase de expiración (plateau). El valor de máxima concentración de CO_2 en la fase de expiración se conoce como $EtCO_2$. En la Figura 1 se muestra dicho valor en el

capnograma asociado a dos ventilaciones, en una de las cuales es evidente el artefacto causado por las compresiones torácicas.

Varios estudios demuestran que la medida del CO_2 exhalado por el paciente es el mejor indicador del RCE [1, 2] y el más rápido [3, 4, 5]. Se han realizado múltiples estudios que demuestran que cuando una persona sufre una parada su nivel de $EtCO_2$ disminuye hasta valores por debajo de 10 mmHg, y que un aumento brusco de dicho valor es síntoma de RCE (recuperación de pulso), tal y como se muestra en la Figura 2. Todos los estudios presentan unas conclusiones similares, aunque no se han llegado a definir valores umbrales del $EtCO_2$ que permitan predecir la recuperación del pulso. Las guías de resucitación del 2010 recomiendan mantener el nivel de $EtCO_2$ por encima de 10-15 mmHg, aunque recientemente la AHA (*American Heart Association*) ha publicado un consenso en el que dice que una Resucitación Cardiopulmonar (RCP) con alta calidad tiene que mantener el nivel del $EtCO_2$ por encima de 20 mmHg.

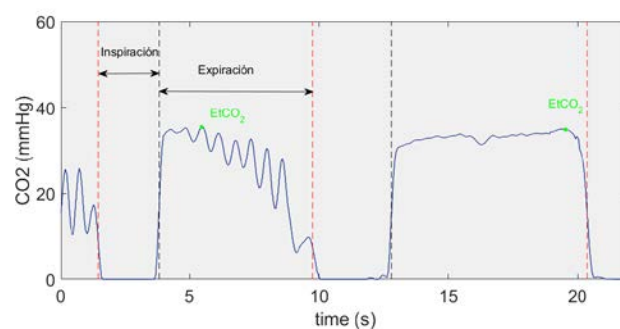


Figura 1: Capnograma asociado a dos ventilaciones, la primera de ellas con artefacto causado por las compresiones torácicas.

En este estudio se plantea en primer lugar un análisis riguroso de los niveles de $EtCO_2$ en diferentes intervalos antes y después del RCE. A continuación se evalúa la capacidad discriminativa de los parámetros extraídos del capnograma, los cuales podrían incluirse en un algoritmo automático de detección de pulso.

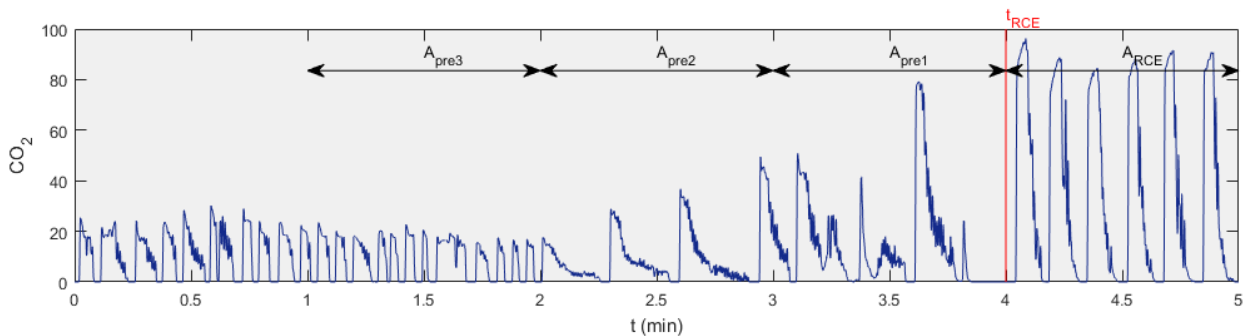


Figura 2: Ejemplo de un episodio que recupera el pulso e intervalos de análisis. Se puede apreciar un gran aumento en el nivel de capnografía cuando el paciente recupera el pulso.

2. Base de datos

La base de datos se compone por 160 registros de parada cardiaca extra hospitalaria recogidos entre los años 2013 y 2014 en Dallas-Forth Worth (Texas, EEUU) utilizando el monitor/desfibrilador Philips MRx. Dichos datos incluyen las señales registradas por el monitor, así como la información clínica del paciente en formato Utstein. Se han escogido aquellos episodios que contengan la señal de capnografía con una duración mínima de 10 minutos, el electrocardiograma y la señal de impedancia torácica; también tiene que contener la información clínica referente al RCE. De este modo se ha obtenido una base de datos de 152 registros, duración media (desviación estándar) de 28 (18) minutos, de los cuales 63 presentaron RCE.

La información clínica contiene el instante en el que el personal médico anotó el RCE. Es habitual que este instante esté marcado ligeramente adelantado o retardado con respecto al instante real del RCE, puesto que el médico se basa en la respiración o los gestos del paciente y hace la anotación a posteriori. Se ha corregido este instante mediante inspección visual de las señales de capnografía, electrocardiograma e impedancia torácica, ya que el electrocardiograma y la impedancia torácica también aportan información sobre el pulso [6]. La mediana (percentil 10/percentil 90) de la diferencia entre el instante anotado por el médico y el instante anotado manualmente es 0(-5/10) segundos.

3. Métodos

En este apartado se explicará cómo se ha procesado el capnograma de cada registro, con el fin último de caracterizar estadísticamente los niveles de EtCO₂ en cada intervalo del episodio de resucitación.

3.1. Marcado automático de ventilaciones

Para detectar las ventilaciones automáticamente se ha utilizado un algoritmo automático basado en el capnograma [7]. Dicho algoritmo filtra la señal de capnografía y detecta el inicio y fase descendiente de la exhalación en la primera diferencia de la señal. En la Figura 1 se muestran los instantes de interés mediante

líneas punteadas. El algoritmo propuesto se basa en la evaluación multivariable de los siguientes 5 parámetros y en el uso de umbrales adaptativos para la discriminación de una ventilación:

- Duración de la fase de inspiración.
- Valor medio del CO₂ en la fase de inspiración.
- Valor medio del CO₂ durante la fase de expiración.
- Área del primer segundo de la fase de expiración.
- Incremento relativo del CO₂.

El algoritmo fue probado con dos bases de datos, una base de registros intra-hospitalaria y otra extra-hospitalaria. Se define la sensibilidad como la probabilidad de detectar correctamente una ventilación, y VPP (Valor Predictivo Positivo) como la probabilidad de que una ventilación detectada sea una ventilación real. Para la base de registros intra-hospitalaria la mediana de Se/VPP fue 99.8/99.8% para los intervalos sin compresiones y 99.8/98.3% para los intervalos con compresiones. Para la base de registros extra-hospitalaria los resultados fueron 99.1/97.0% para los intervalos sin compresiones y 99.0/97.6% para los intervalos con compresiones.

3.2. Cálculo automático del EtCO₂

El valor de EtCO₂ asociado a cada ventilación se ha evaluado automáticamente identificando el valor máximo del capnograma en la fase de expiración. Una vez que se han marcado todos los valores de EtCO₂ se han considerado los siguientes niveles que se identifican en la Figura 2:

- Nivel medio del EtCO₂ 3, 2 y 1 minuto antes del RCE (A_{pre3} , A_{pre2} y A_{pre1} respectivamente).
- Nivel medio del EtCO₂ antes de los indicios de RCE (A_{pre}), como mínimo anterior a los 3 minutos del RCE (anterior a los valores de A_{pre3}).
- Nivel medio del EtCO₂ en el minuto siguiente al RCE (A_{RCE}).
- Para aquellos pacientes que no presentan RCE, se ha calculado el nivel medio del EtCO₂ en los últimos 5 minutos del episodio (A_{NoRCE}).

3.3. Análisis estadístico

Para analizar los niveles de EtCO₂ en diferentes intervalos se utilizarán diagramas de cajas. Se analizarán los valores absolutos de cada intervalo mencionado y la variación en un minuto. Para los casos con RCE se han considerado las siguientes variaciones por minuto, $\Delta EtCO_2$: $\Delta A_{32}=A_{pre2}-A_{pre3}$, $\Delta A_{21}=A_{pre1}-A_{pre2}$ y $\Delta A_{RCE}=A_{RCE}-A_{pre1}$. Para los casos sin RCE se han considerado las variaciones entre el minuto 3 y el minuto 2 de los últimos 5 minutos de cada episodio: ΔA_{NoRCE} . Por otro lado, se analiza la diferencia entre los valores de $A_{pre3}, A_{pre2}, A_{pre1}, A_{RCE}$ y los valores previos al RCE A_{pre} . Para comparar las distribuciones estadísticas se utilizará la prueba de Mann-Whitney, considerando que la prueba rechaza la hipótesis nula para $p < 0.05$.

Finalmente, para medir la capacidad de discriminación del nivel de EtCO₂ se calculará el AUC (*Area Under the Curve*) y se dibujará su curva ROC (*Receiver Operating Characteristics*).

4. Resultados

En el panel (a) de la Figura 3 se muestran los valores absolutos de EtCO₂ en los intervalos de análisis, tanto para pacientes sin RCE (A_{NoRCE}) como para pacientes que en algún momento recuperan RCE (el resto de valores). En el panel (b) se muestran los valores relativos respecto a A_{pre} en distintos intervalos, y por lo tanto se refiere únicamente a pacientes con RCE. Por último, en el panel (c) se muestran las variaciones por minuto, $\Delta EtCO_2$.

La distribución de EtCO₂ presenta una mediana (intercuartiles) de 23.4 (15.3/37.7) mmHg para A_{NoRCE} , 33.8 (25.8/45.1) mmHg para A_{pre2} y 58.4 (40.9/77.5) mmHg para A_{RCE} , en todos los intervalos próximos a RCE las diferencias con A_{NoRCE} son significativas ($p < 0.05$). Se puede apreciar que los valores del EtCO₂ aumentan según se acerca el instante del RCE. La mediana del valor EtCO₂ no es significativamente diferente para las distribuciones de A_{NoRCE} y A_{pre} ($p = 0.88$), ni para las de A_{NoRCE} y A_{pre3} ($p = 0.20$). Sin embargo, la mediana es diferente para A_{NoRCE} y los correspondientes a A_{pre2} ($p = 0.04$), A_{pre1} ($p < 0.01$) y A_{RCE} ($p < 0.01$). Los resultados en el panel (b) muestran que la diferencia respecto a A_{pre} aumenta según se acerca el instante del RCE.

El $\Delta EtCO_2$ para los intervalos previos al RCE, ΔA_{32} , es 3.9 (-1.2/9.2) mmHg, y aumenta en el intervalo más cercano, ΔA_{21} , con valores de 6.81 (2.9/13.9) mmHg. En cambio, el incremento por minuto en intervalos sin RCE es significativamente inferior, -0.4 (-2.3/1.2) mmHg, como puede apreciarse en el panel (c) de la Figura 2.

Por último se ha medido la capacidad de predicción del nivel de EtCO₂ y el $\Delta EtCO_2$ para predecir el RCE. La evaluación se muestra en forma de ROC₁ y ROC₂ para ambos parámetros, respectivamente:

- En el análisis de EtCO₂ se han considerado los valores de A_{NoRCE} y A_{pre} , en el grupo sin RCE, y los valores de A_{pre1} y A_{RCE} en el grupo RCE, cajas grises y azules en la Figura 3 (a), respectivamente.

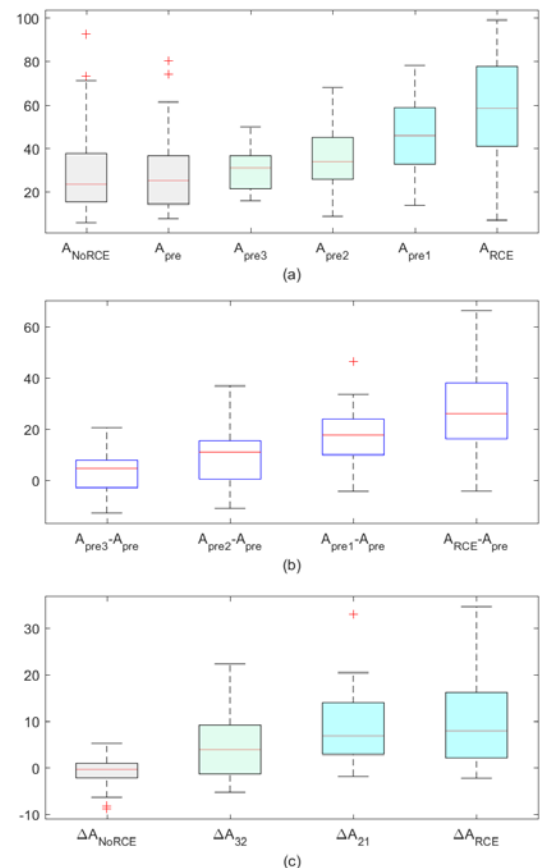


Figura 3: Para cada intervalo de interés se muestra el valor absoluto del EtCO₂ (a), la variación por minuto, $\Delta EtCO_2$ (b) y valores relativos respecto al intervalo NoRCE (c)

- En el análisis de $\Delta EtCO_2$ se han considerado los valores de ΔA_{NoRCE} en el grupo sin RCE y los valores ΔA_{21} y ΔA_{RCE} en el grupo con RCE, caja gris y cajas azules en la Figura 3 (c), respectivamente.

Las curvas obtenidas para EtCO₂ e $\Delta EtCO_2$ (Figura 4) proporcionaron un AUC=0.83 y de AUC=0.89, respectivamente. Por lo tanto se puede concluir que los valores relativos de los niveles de EtCO₂ tiene mayor capacidad de discriminación para la detección de pulso que los valores absolutos. La Figura 4 muestra las curvas ROC para los dos casos mencionados. Se define como Sensibilidad (Se) la probabilidad de detectar el pulso cuando realmente hay pulso. Se define como Especificidad (Sp) la probabilidad de no detectar pulso cuando realmente no hay pulso.

5. Limitaciones

Los resultados obtenidos en este trabajo se ven limitados por la composición desigual de las dos poblaciones a analizar. Esto se debe a un mayor número de episodios sin pulso y un mayor número de valores de $\Delta EtCO_2$ para los

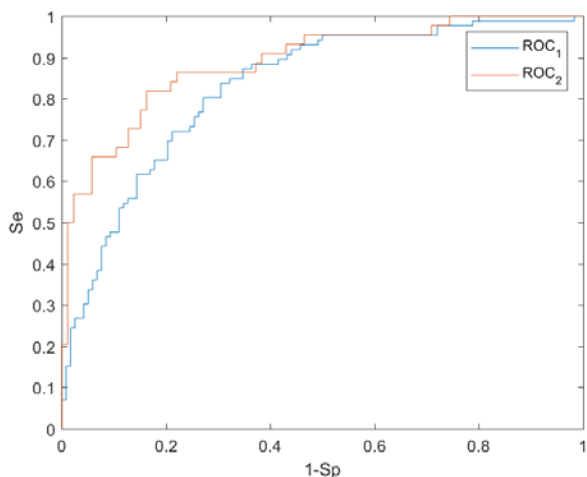


Figura 4: Curvas ROC para los valores absolutos (ROC_1) y relativos (ROC_2) del $EtCO_2$.

intervalos sin pulso. Así, por ejemplo, el número de muestras sin pulso consideradas en ROC_2 fue de 89 frente a los 44 con pulso. Esto se debe a que la señal de capnografía no siempre está disponible en los minutos previos al RCE, ya que se registra en pacientes intubados que muestran algún signo de pronóstico positivo. Para obtener conclusiones más contundentes convendría verificar los resultados con una mayor base de datos.

6. Conclusiones

Se ha concluido que los valores de $EtCO_2$ medidos en la señal de capnografía tienen capacidad para discriminar intervalos con pulso y sin pulso. Se han propuesto dos parámetros, el valor absoluto del $EtCO_2$ y el incremento relativo del mismo, $\Delta EtCO_2$, y por primera vez se ha evaluado su capacidad discriminativa para identificar intervalos con pulso. Estos valores junto con otros parámetros obtenidos a partir de señales como el electrocardiograma o la impedancia torácica podrían definir un algoritmo implementable en equipos de desfibrilación con el fin de ayudar al rescatador a detectar

el pulso. Todo ello contribuiría a mejorar el índice de supervivencia.

Agradecimientos

Este trabajo ha recibido apoyo económico conjunto del Ministerio de Economía y Competitividad Español y del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) a través del proyecto (TEC2015-64678-R), y de la Universidad del País Vasco del proyecto EHU16/18 y de la unidad de investigación UFI11/16.

Referencias

- [1] Gazmuri, R. J., Von Planta, M., Weil, M. H., & Rackow, E. C. (1989). Arterial PCO_2 as an indicator of systemic perfusion during cardiopulmonary resuscitation. *Critical care medicine*, 17(3), 1989, pp.237-240.
- [2] Gudipati, C. V., Weil, M. H., Bisera, J., Deshmukh, H. G., & Rackow, E. C. Expired carbon dioxide: a noninvasive monitor of cardiopulmonary resuscitation. *Circulation*, 1988, vol. 77, no 1, p. 234-239.
- [3] Pokorná, M., Nečas, E., Kratochvíl, J., Skřípský, R., Andrlík, M., & Franěk. A sudden increase in partial pressure end-tidal carbon dioxide ($P_{ET}CO_2$) at the moment of return of spontaneous circulation. *The Journal of emergency medicine*, 2010, vol. 38, no 5, p. 614-621.
- [4] Sehra, R., Underwood, K., & Checchia, P. End tidal CO_2 is a quantitative measure of cardiac arrest. *Pacing and clinical electrophysiology*, 2003, vol. 26, no 1p2, p. 515-517.
- [5] Jin, X., Weil, M. H., Tang, W., Povoas, H., Pernat, A., Xie, J., & Bisera, J. End-tidal carbon dioxide as a noninvasive indicator of cardiac index during circulatory shock. *Critical care medicine*, 2000, vol. 28, no 7, p. 2415-2419.
- [6] Alonso, E., Aramendi, E., Daya, M., Irusta, U., Chicote, B., Russell, J. K et al. Circulation detection using the electrocardiogram and the thoracic impedance acquired by defibrillation pads. *Resuscitation*, 2016, vol. 99, p. 56-62.
- [7] Aramendi, E., Elola, A., Alonso, E., Irusta, U., Daya, M., Russell, J. K. et al. Feasibility of the capnogram to monitor ventilation rate during cardiopulmonary resuscitation. *Resuscitation*, 2017, vol. 110, p. 162-168.

Estudio de la Variabilidad del Intervalo TQ para la Detección Automática de Episodios Cortos de Fibrilación Auricular

J. Ródenas García¹, M. García Teruel¹, R. Alcaraz Martínez¹, J.J. Rieta Ibáñez²

¹ Grupo de Investigación en Electrónica, Telecomunicación y Bioingeniería, Dpto. Ingeniería Eléctrica, Electrónica, Automática y Comunicaciones, Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete, España, {[Manuel.Garcia](mailto:Manuel.Garcia@uclm.es), [Juan.Rodenas](mailto:Juan.Rodenas@uclm.es), [Raul.Alcaraz](mailto:Raul.Alcaraz@uclm.es)}@uclm.es

² BioMIT.org, Dep. Ingeniería Electrónica, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, jjrieta@upv.es

Resumen

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia cardíaca más frecuente en la práctica clínica diaria, y su gestión involucra una importante parte de los recursos económicos de los sistemas nacionales de salud de todo el mundo. A menudo, esta arritmia es asintomática, lo que dificulta su detección temprana, particularmente si se manifiesta con episodios breves. Con el fin de detectar automáticamente la FA, este trabajo cuantifica y combina por primera vez información presente en el electrocardiograma de superficie (ECG) procedente tanto de la variabilidad mostrada por la actividad ventricular, a través de los intervalos RR, como de la auricular, a través de la variable morfología de las ondas fibrilatorias (ondas f) contenidas en los intervalos TQ. La regularidad de cada una de las series temporales así obtenidas es calculada posteriormente mediante el Coeficiente de Entropía Muestral (COSEn). Finalmente, la información obtenida por ambas vías es combinada mediante un análisis discriminante. El algoritmo desarrollado se ha validado mediante señales de la base de datos MIT-BIH AF. Los resultados de clasificación demostraron un muy buen comportamiento del método, a pesar de la corta ventana de datos manejada. Los mejores resultados (97,55% de precisión, 99,02% de sensibilidad y 96,29% de especificidad) se obtuvieron para una longitud de la secuencia de datos L de 15 latidos. No obstante, teniendo en cuenta que el retardo en la transición fue mayor para mayores valores de L, un buen compromiso entre precisión y retardo en la transición puede ser obtenido con L=10 latidos, para el cual la precisión empeoró menos del 1,25%.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es el tipo de arritmia más común en la población general, y se ha convertido en un importante desafío cardiovascular en el mundo moderno [1]. Los mecanismos fisiopatológicos que causan y mantienen esta taquiarritmia supraventricular no son completamente conocidos todavía, lo que hace que su diagnóstico y terapia resulten altamente complejos y poco eficientes [2].

Aunque esta arritmia en raras ocasiones resulta mortal por sí misma, se ha asociado con un incremento en el riesgo de mortalidad por causas cardiovasculares [3]. De hecho, se considera que uno de cada cinco ictus ocurren en pacientes con FA [4]. En este sentido, diferentes estudios han resaltado un incremento en el número de hospitalizaciones debido a esta arritmia en los últimos

años [5], involucrando su gestión una parte significativa de los recursos económicos de los sistemas nacionales de salud [5]. Por tanto, la reducción de la prevalencia de la FA se ha convertido en una prioridad [6], jugando su detección temprana un papel clave para evitar su progresión y tratar de reducir su carga [7].

Si bien síntomas tales como fatiga, mareos, dolor de pecho o disnea pueden presentarse en los inicios de esta arritmia [8], algunos autores han resaltado que hasta un 40% de los pacientes de FA son asintomáticos [9]. Una monitorización continuada del electrocardiograma de superficie (ECG) puede suponer, por tanto, una importante herramienta para establecer su diagnóstico [10].

A causa de la dificultad que supone la detección de episodios de FA desde un ECG por inspección visual, particularmente si estos son breves, una gran variedad de estrategias basadas en el estudio del ECG se han propuesto en la literatura durante los últimos años. La mayoría de estos algoritmos tratan de explotar alguna de las dos características mostradas por el ECG durante esta arritmia. Por un lado, la FA ocurre cuando los impulsos eléctricos proporcionados por el nódulo sinusal son reemplazados por múltiples e irregulares frentes de onda que excitan de manera continuada las aurículas. Como un resultado, la típica onda P típica observada en el ECG relacionada con la despolarización auricular durante el ritmo sinusal (RS) es sustituida por ondas fibrilatorias (ondas f) de baja amplitud y morfología variable [11]. Por otro lado, como consecuencia de la alta actividad auricular, cuyo ritmo puede superar las 500 activaciones/minuto [11], el nodo auriculoventricular solo es capaz de conducir algunas de ellas a los ventrículos. Esto ocasiona un ritmo ventricular rápido e irregular, el cual es fácilmente observable en el ECG, pues contrasta con el patrón completamente regular encontrado en la serie de intervalos RR durante RS.

El objetivo principal de este trabajo es desarrollar un algoritmo que sea capaz de diferenciar automáticamente entre episodios cortos de FA y RS, utilizando para ello una combinación de las dos características citadas anteriormente, esto es, la variabilidad presentada por las ondas f y la variabilidad presentada por los intervalos RR. Concretamente, se utilizará el Coeficiente de Entropía Muestral (COSEn) para calcular la regularidad de las

variaciones morfológicas de los intervalos TQ, así como la de las series temporales de los intervalos RR.

2. Materiales

Para evaluar el algoritmo desarrollado en este trabajo se utilizó la base de datos MIT-BIH AF, disponible libremente en PhysioNet. Esta base de datos se ha empleado ampliamente en la validación de los detectores automáticos de FA propuestos en los últimos años. Ésta contiene 23 registros de ECG completamente anotados de 10 horas de duración (con más de 1 millón de latidos, de los cuales 43% son de FA), muestreados a 250 Hz, con un rango de ± 10 mV y una resolución de 12 bits. Se excluyeron los registros "04936" y "05091", ya que incluyen muchas anotaciones incorrectas [12]. Por otra parte, aunque cada registro de ECG incluye dos derivaciones, y dado que la presencia de ruido es muy común en estos registros ambulatorios de larga duración [13], solo se analizó la que visualmente presentaba menos ruido.

3. Método

La Figura 1 muestra, de una manera gráfica, la metodología seguida en el presente trabajo. Tal y como puede observarse, una vez se preprocesó el ECG, se calculó, en paralelo, la variabilidad de los intervalos RR y TQ. Finalmente, la información obtenida por ambas vías se combinó a través de una etapa de clasificación, mediante un análisis lineal discriminante, para asignar una clase potencial a la señal. Cada uno de estos pasos se detallan a continuación.

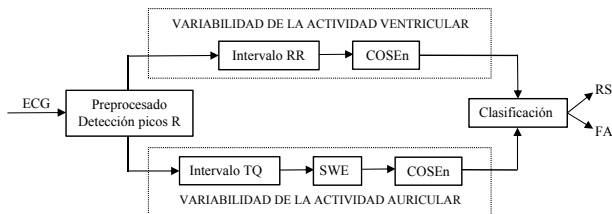


Figura 1. Diagrama de bloques del método propuesto para discernir entre episodios cortos de FA y RS en el ECG.

3.1. Preprocesado del ECG

Cada señal se preprocesó para reducir el ruido y cualquier otra interferencia. La línea base se eliminó haciendo uso de un filtro IIR paso alto con una frecuencia de corte de 0,5 Hz. Además, el ruido de red y el de alta frecuencia se redujeron con un filtro paso bajo IIR con una frecuencia de corte de 50 Hz. Posteriormente, los picos R se detectaron mediante el uso de un algoritmo basado en la transformada fasorial [13]. Este algoritmo ha demostrado una capacidad mayor del 99% para identificar cada pico R sin importar la morfología del latido [13]. Los latidos ectópicos ventriculares también fueron identificados y considerados en el estudio.

3.2. Variabilidad de la actividad ventricular

Los intervalos RR (RRI) se obtuvieron a partir de la diferencia entre picos R consecutivos y, a continuación, su variabilidad se calculó haciendo uso del COSEn. La entropía muestral es una estimación de entropía utilizada

para cuantificar la regularidad de una secuencia de datos de longitud L . En este caso, se ha empleado para medir la regularidad de la serie temporal RRI. El COSEn fue propuesto hace algunos años por Lake & Moorman para discernir desde el ECG entre intervalos cortos de FA y RS, obteniendo una precisión de alrededor del 90% [14]. Puede definirse a través de la siguiente expresión:

$$\text{COSEn} = -\ln\left(\frac{A}{B}\right) + \ln(2r) - \ln(\mu) \quad (1)$$

donde A y B representan el número total de patrones de intervalos RR de longitud $m+1$ y m , respectivamente, que coinciden dentro de una cierta tolerancia r . El parámetro μ es la longitud media de los RRI analizados, proporcionando así información sobre la frecuencia cardiaca media. Indicar que el COSEn se ha calculado haciendo uso de los parámetros especificados por Lake & Moorman para optimizar su rendimiento [14].

Con el objetivo de evaluar cómo la longitud de la secuencia temporal analizada afecta al retardo de transición y al rendimiento de la clasificación, se analizaron diferentes valores de L (5, 8, 10, 12 y 15). Para cada uno de ellos, se utilizó una validación cruzada estratificada de 10 iteraciones para entrenar y validar el COSEn. Para cada conjunto de aprendizaje, se utilizó una curva ROC para obtener el umbral discriminante óptimo entre FA y RS. La sensibilidad (Se) se consideró como el porcentaje de latidos de FA correctamente clasificados, mientras que la tasa de latidos de RS correctamente identificados se consideró como la especificidad (Sp). El umbral óptimo se seleccionó como aquel que proporciona la mayor precisión (Acc), es decir, el mayor número de latidos totales clasificados correctamente. Finalmente, se obtuvo la precisión para cada conjunto de validación y se promedió para las 10 iteraciones.

3.3. Variabilidad de la actividad auricular

Para caracterizar la morfología de las ondas f , en primer lugar, se detectó cada intervalo TQ utilizando como referencia el siguiente pico R y, a continuación, como en trabajos anteriores [15, 16], se caracterizó dicho intervalo en el dominio wavelet. Para ello, se obtuvo la entropía wavelet estacionaria (SWEn) de cada intervalo TQ mediante la descomposición de la señal en diferentes escalas de tiempo y frecuencia, y calculando la entropía de Shannon sobre sus distribuciones de energía relativa [15]. De esta manera, formas de onda organizadas (como las ondas P) proporcionan valores bajos de SWEn en tanto que morfologías complejas (como las ondas f) valores altos. Indicar que este índice se obtuvo usando 4 niveles de descomposición y una función wavelet Daubechies de sexto orden. Por último, la variabilidad de la serie temporal obtenida mediante la SWEn adquirida en cada intervalo TQ también se obtuvo mediante el COSEn. Tras algunas pruebas experimentales, los parámetros seleccionados en este caso fueron $m = 1$ y $r = 0.14$. Igual que en el estudio de la variabilidad ventricular, se analizaron diferentes valores de la longitud de la secuencia temporal L (5, 8, 10, 12 y 15), y se utilizó una validación cruzada para validar la métrica propuesta.

4. Resultados y Discusión

Los resultados de la clasificación de episodios de FA y RS obtenidos a partir del índice COSEn sobre la serie temporal RRI, en función de la longitud de secuencia de datos L , se resumen en la Tabla 1. Tal como se observa, cuanto mayor fue el valor de L , mayor fue la precisión obtenida. Por ejemplo, mientras la precisión para $L = 15$ latidos resultó del 95,42% (sensibilidad del 97,04% y especificidad del 94,08%), para $L = 5$ latidos fue sólo del 85,36% (sensibilidad del 87,80% y especificidad del 83,36%). Es interesante observar que los valores de especificidad fueron, en todos los casos, inferiores a los valores de sensibilidad. Esto se podría deber a que los latidos ectópicos causan variaciones en la frecuencia cardíaca y, por lo tanto, ocasionan un RRI irregular, que puede resultar en una falsa detección de la FA. En cuanto al retardo medio, los resultados mostraron un retardo de transición creciente en función de L , fijándose éste alrededor de la mitad del valor de L .

En consonancia con los resultados de clasificación obtenidos por el índice COSEn sobre la serie RRI, los obtenidos por el COSEn sobre la serie SWEn también mostraron una precisión creciente en función de L , tal y como se observa en la Tabla 2. Así, mientras que la precisión para $L = 15$ latidos resultó del 94,83% (sensibilidad del 95,64% y especificidad del 94,17%), ese valor fue del 87,17% (sensibilidad del 90,62% y especificidad del 84,32%) para $L = 5$ latidos. Con independencia de la presencia de latidos ectópicos o ritmos ventriculares irregulares durante RS, en este caso el índice COSEn sobre la serie SWEn fue capaz de identificar correctamente el ritmo del paciente. En este sentido, la estrategia de obtención del TQ [16] proporcionó una identificación robusta en estos casos. No obstante, debe indicarse que este índice no será capaz de discernir entre SR y FA cuando la presencia de ruido enmascare completamente el intervalo TQ. Con respecto al retardo medio, como se puede ver en la Tabla 2, los valores obtenidos aumentaron con el valor de L .

Por último, la Tabla 3 presenta los resultados de clasificación obtenidos por el análisis lineal discriminante utilizando como parámetros los índices COSEn obtenidos sobre ambas series temporales, RRI y SWEn. Debe observarse que, independientemente de la longitud de la secuencia de datos L , se obtuvo mayor precisión que utilizando los índices individualmente. Como en los casos anteriores, la mejor precisión se obtuvo para $L = 15$, 97,55% (sensibilidad del 99,02% y especificidad del 96,29%). Esta tabla recoge también el retardo medio, en función de L , en la detección de FA y RS para todas las transiciones de un tipo de episodio a otro, revelando que cuando L aumenta, se requiere un mayor número de latidos para identificar el inicio de un episodio diferente. A este respecto, la Figura 2 muestra un ejemplo de un episodio breve de FA, donde las transiciones de RS a FA se detectaron con un retardo de 4, 5, 6, 7 y 9 latidos, cuando las métricas se calcularon con $L = 5, 8, 10, 12$ y 15, respectivamente. Considerando el aumento del retardo de transición con L y que la precisión para valores L

superiores a 10 mejoró menos del 1,25%, podría seleccionarse un valor de $L = 10$ como un compromiso óptimo entre ambos aspectos. Para este valor de L el retardo promedio fue de 6 latidos.

L	Se (%)	Sp (%)	Acc (%)	Retardo
15	97.04	94.08	95.42	8
12	96.28	93.07	94.52	7.25
10	95.51	91.81	93.48	6
8	94.88	89.94	92.17	5
5	87.80	83.36	85.36	2.75

Tabla 1. Resultados de clasificación del índice COSEn sobre la serie RRI para diferentes valores de L .

L	Se (%)	Sp (%)	Acc (%)	Retardo
15	95.64	94.17	94.83	10
12	95.42	92.77	93.97	9
10	94.57	91.84	93.07	7.25
8	93.22	90.52	91.74	6.5
5	90.62	84.32	87.17	4

Tabla 2. Resultados de clasificación del índice COSEn sobre la serie SWEn para diferentes valores de L .

L	Se (%)	Sp (%)	Acc (%)	Retardo
15	99.02	96.29	97.55	8.25
12	98.51	95.68	96.98	7
10	97.83	94.87	96.23	6
8	96.70	93.75	95.11	4.875
5	90.07	90.41	90.25	3.25

Tabla 3. Resultados de clasificación obtenidos por el análisis discriminante para diferentes valores de L .

5. Conclusiones

El presente trabajo ha demostrado que el análisis conjunto de la variabilidad del intervalo TQ y del intervalo RR es capaz de proporcionar una robusta detección automática de episodios de FA, mejorando la que se obtendría al analizar dicha variabilidad por separado. La metodología desarrollada consiste en una sola métrica, propiciando que su interpretación clínica sea más fácil que en otros métodos publicados anteriormente, que suelen requerir muchas variables las cuales se combinan bajo clasificadores complejos. El algoritmo introduce un retardo de tan solo unos pocos latidos dentro del proceso de detección, resultando menor que el obtenido en trabajos previos.

Agradecimientos

Trabajo financiado por los proyectos TEC2014-52250-R y DPI2017-83952-C3 MINECO/AEI/FEDER, UE.

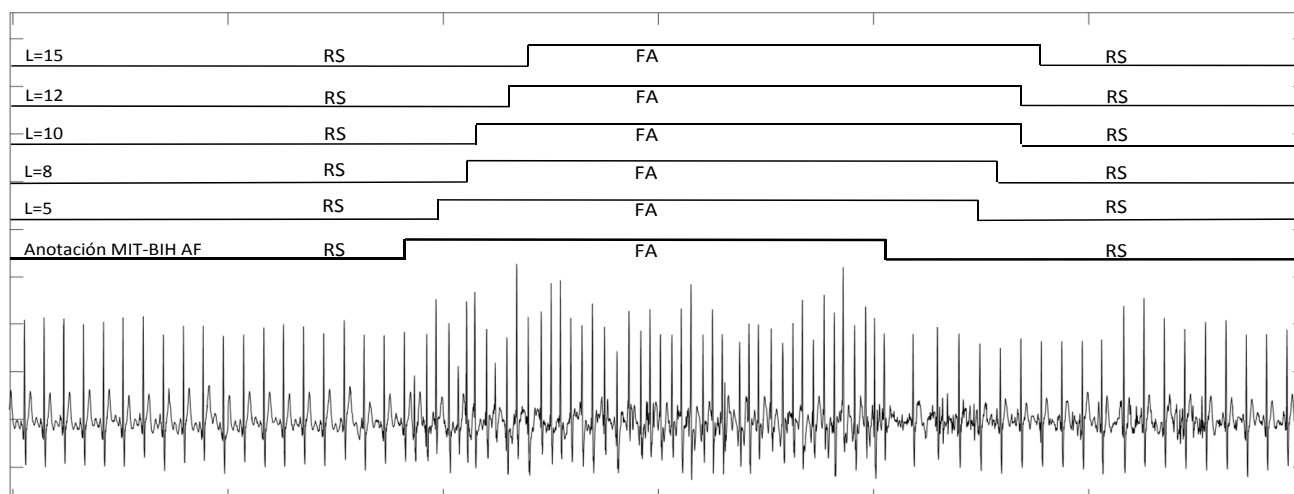


Figura 2. Episodio de FA, donde la transición de RS a FA es detectada por el clasificador (análisis discriminante) con un retardo de 4, 5, 6, 7 y 9 latidos, computando la métrica COSen (para las series temporales RRI y SWEn) con $L=5, 8, 10, 12$ y 15 , respectivamente.

Referencias

- [1] Chugh SS, Roth GA, Gillum RF, Mensah GA. Global burden of atrial fibrillation in developed and developing nations. *Glob Heart*, vol. 9, no. 1, 2014, pp 113–9 (ISSN: 2211-8179).
- [2] Fuster V, Rydén LE, Cannom DS, Crijns HJ, Curtis AB, et al. 2011 ACCF/AHA/HRS focused updates incorporated into the ACC/AHA/ESC 2006 Guidelines for the management of patients with atrial fibrillation: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines developed in partnership with the European Society of Cardiology and in collaboration with the European Heart Rhythm Association and the Heart Rhythm Society. *J Am Coll Cardiol*, vol. 57, no. 11, 2011, pp. e101–98 (ISSN: 1524-4539).
- [3] Ferrari R, Bertini M, Blomstrom-Lundqvist C, Dobrev D, Kirchhof P et al. An update on atrial fibrillation in 2014: From pathophysiology to treatment. *Int J Cardiol*, vol. 203, 2016, pp. 22-9 (ISSN: 1874-1754).
- [4] Zoni-Berisso M, Lercari F, Carazza T, Domenicucci S. Epidemiology of atrial fibrillation: European perspective. *Clin Epidemiol*, vol. 6, 2014, pp. 213-20 (ISSN: 1179-1349).
- [5] Sheikh A, Patel NJ, Nalluri N, Agnihotri K, Spagnola J, et al. Trends in hospitalization for atrial fibrillation: epidemiology, cost, and implications for the future. *Prog Cardiovasc Dis*, vol. 58, no. 2, 2015, pp. 105–16 (ISSN: 1873-1740).
- [6] Van Wagoner DR, Piccini JP, Albert CM, Anderson ME, Benjamin EJ, et al. Progress toward the prevention and treatment of atrial fibrillation: A summary of the Heart Rhythm Society Research Forum on the Treatment and Prevention of Atrial Fibrillation, Washington, DC, December 9-10, 2013. *Heart Rhythm*, vol 12, no. 1, 2015, pp. e5–e29 (ISSN: 1556-3871).
- [7] Amara W, Montagnier C, Cheggour S, Boursier M, Gully C, et al. Early detection and treatment of atrial arrhythmias alleviates the arrhythmic burden in paced patients: The SETAM study. *Pacing Clin Electrophysiol*, vol. 40, no. 5, 2017, pp.:527–36 (ISSN: 1540-8159).
- [8] McCabe PJ, Rhudy LM, Chamberlain AM, DeVon HA. Fatigue, dyspnea, and intermittent symptoms are associated with treatment-seeking delay for symptoms of atrial fibrillation before diagnosis. *Eur J Cardiovasc Nurs*, vol. 15, no. 6, 2015, pp. 459-68 (ISSN: 1873-1953).
- [9] Xiong Q, Proietti M, Senoo K, Lip GY. Asymptomatic versus symptomatic atrial fibrillation: A systematic review of age/gender differences and cardiovascular outcomes. *Int J Cardiol*, vol. 191, 2015, pp. 172-7 (ISSN: 1874-1754).
- [10] January CT, Wann LS, Alpert JS, Calkins H, Cigarroa JE et al. 2014 AHA/ACC/HRS guideline for the management of patients with atrial fibrillation: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society. *J Am Coll Cardiol*, vol. 64, no. 21, 2014, pp. e1-76 (ISSN: 1558-3597).
- [11] Petrutiu S, Ng J, Nijm GM, Al-Angari H, Swiryn S, Sahakian AV. Atrial fibrillation and waveform characterization. A time domain perspective in the surface ECG. *IEEE Eng Med Biol Mag*, vol. 25, no. 6, 2006, pp. 24-30 (ISSN: 0739-5175).
- [12] Zhou X, Ding H, Wu W, Zhang Y. A real-time atrial fibrillation detection algorithm based on the instantaneous state of heart rate. *PLoS One*, vol. 10, no. 9, 2015, pp. e0136544 (ISSN: 1932-6203).
- [13] Martínez A, Alcaraz R, Rieta JJ. Application of the phasor transform for automatic delineation of single-lead ECG fiducial points. *Physiol Meas*, vol. 31, no. 11, 2010, pp. 1467-85 (ISSN: 1361-6579).
- [14] Lake DE, Moorman JR. Accurate estimation of entropy in very short physiological time series: the problem of atrial fibrillation detection in implanted ventricular devices. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, vol. 300, no. 1, 2011, pp. H319-25 (ISSN: 1522-1539).
- [15] Ródenas J, García M, Alcaraz R, Rieta JJ. Wavelet entropy automatically detects episodes of atrial fibrillation from single-lead electrocardiograms. *Entropy*, vol. 17, no. 9, 2015, pp. 6179-99 (ISSN: 1099-4300).
- [16] García M, Ródenas J, Alcaraz R, Rieta JJ. Application of the relative wavelet energy to heart rate independent detection of atrial fibrillation. *Comput Methods Programs Biomed*, vol. 131, 2016, pp. 157-68 (ISSN: 1872-7565).

Método de Delineación de Electrogramas Fragmentados en Fibrilación Auricular

D. Osorio Fortea¹, R. Alcaraz Martínez², J.J. Rieta Ibáñez¹

¹BioMIT.org, Dep. de Ingeniería Electrónica, Universitat Politècnica de Valencia, España, {dosorio,jjrieta}@upv.es

²Grupo de Inv. en Electrónica, Telecom. y Bioingeniería, Univ. de Castilla-La Mancha, España, raul.alcaraz@uclm.es

Resumen

Actualmente, los detectores de ondas de activación local (OALs) para electrogramas (EGMs) en fibrilación auricular (FA) no son suficientemente precisos debido a la variabilidad de amplitudes, longitudes de ciclo auricular (LCAs) y morfologías que presentan. En particular, esta heterogeneidad es máxima en electrogramas auriculares complejos fragmentados (CFAEs). En este estudio, se presenta un nuevo detector de OALs para EGMs bipolares, especialmente diseñado para CFAEs. Concretamente, este método realiza una estimación del grado de fragmentación de los EGMs con el objetivo de identificar los CFAEs, a los cuales aplica una novedosa transformación de los valores de amplitud, reduciendo así la diferencia entre activaciones grandes y pequeñas. El algoritmo de detección de OALs consta de una primera etapa de detección por amplitud, tras la que se estima la frecuencia de activación del EGM a través de las LCAs detectadas. De esta forma, activaciones más pequeñas pueden ser localizadas al estar situadas en intervalos más largos que la mediana de las LCAs. La base de datos empleada consta de 10 EGMs en FA tipo I, 10 tipo II y 40 tipo III, los cuales se anotaron y clasificaron siguiendo el criterio de Wells, por dos cardiólogos. Los resultados de clasificación obtenidos por el método para los EGMs en FA tipo III fueron de 91.95 % en exactitud, 95.05 % en sensibilidad y 96.58 % en predictividad positiva, mientras que para tipo I y II fueron de 100 % en los tres parámetros. En base a estos resultados, el método desarrollado ha demostrado una gran precisión en la detección de OALs, incluso en CFAEs.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia más común y la que provoca un mayor número de hospitalizaciones en todo el mundo [1]. En concreto, se calcula que aproximadamente 33.5 millones de personas sufren esta alteración cardíaca. Únicamente en Estados Unidos, la prevalencia actual se estima superior a 5 millones, estando previsto que alcance los 12 millones en este país y 14-17 millones en Europa en el año 2030 [2, 3]. Además, la proporción de individuos que presentan esta arritmia aumenta exponencialmente con la edad, estando presente en un 3.7-4.2 % de las personas de 60-70 años y en un 10-17 % de las mayores de 80 años [4]. Por lo tanto, con el objetivo de comprender mejor los mecanismos fisiológicos que provocan la FA, surge la necesidad de llevar a cabo nuevos estudios centrados en el desarrollo de nuevos tratamientos más avanzados [5].

Respecto a terapias asociadas a la FA, la ablación por catéter (AC) es una técnica especialmente efectiva para pacientes que sufren FA paroxística y no han respondido de manera satisfactoria a tratamiento farmacológico antiarrítmico [6]. La principal estrategia de ablación consiste en aislar eléctricamente las venas pulmonares (VPs), pues éstas representan el principal foco responsable del mantenimiento de la FA, observándose en un 82-90 % de los casos en pacientes con FA paroxística [2]. Sin embargo, este aislamiento de las VPs no es suficientemente efectivo en pacientes con FA persistente, siendo necesaria la ablación adicional de otras regiones responsables del mantenimiento de la FA. Entre estas estrategias complementarias, destaca la ablación de regiones asociadas a electrogramas auriculares complejos fragmentados (Complex Fractionated Atrial Electrograms, CFAEs) [7]. Para localizar las secciones auriculares que presentan CFAEs, se pueden generar modelos computacionales de activación eléctrica utilizando la longitud de ciclo auricular (LCA) de los EGMs, la cual se define como la duración del intervalo comprendido entre dos activaciones consecutivas. El valor promedio de estas LCAs es un parámetro muy preciso para la estimación de la frecuencia de activación, pudiendo emplearse para localizar CFAEs, los cuales corresponden con EGMs presentando un valor medio de LCAs inferior a 120 ms [8]. De este modo, el desarrollo de un método que estime de forma precisa estas LCAs permitirá localizar las regiones auriculares que presenten CFAEs con mayor fiabilidad y, de esta forma, mejorar los resultados de los procedimientos de AC respecto a la ablación exclusiva de VPs.

En este estudio, se presenta un novedoso método para la detección de OALs en EGMs bipolares de FA. Debido a la gran variabilidad de amplitudes que suelen presentar los CFAEs, el método propuesto emplea una técnica de estimación de la fragmentación en EGMs, con el objetivo de identificar los CFAEs y aplicarles un aumento de amplitud selectiva. De manera específica, este incremento es inversamente proporcional a la amplitud de las activaciones, por lo que las activaciones más pequeñas son las más beneficiadas, consiguiendo así reducir las diferencias de amplitud. Por último, el algoritmo de detección consta de una etapa de selección de activaciones basada en un criterio de amplitud mínima, tras la cual se realiza una búsqueda de activaciones pequeñas en intervalos entre activaciones más largas que la mediana de las LCAs, estimada a partir de las activaciones detectadas.

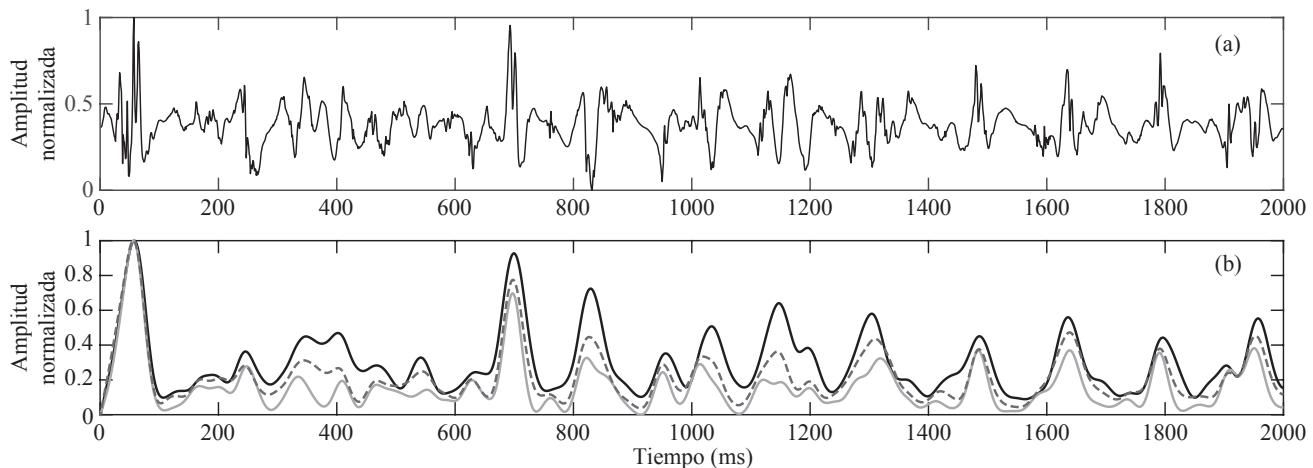


Figura 1. Ejemplo comparativo de las señales obtenidas tras el estudio realizado sobre el filtrado de Botteron. (a) Electrograma tras la reducción de ruido, (b) señales obtenidas tras la aplicación del filtrado de Botteron empleando diferentes valores de la frecuencia mínima de corte del filtro paso banda. La señal gris continua hace referencia al filtrado de Botteron con la configuración típica, mientras que la señal gris discontinua corresponde con la disminución de la frecuencia de corte mínima del filtro paso banda de 40 a 30 Hz. Por último, la señal negra continua resulta de la disminución de la frecuencia de corte mínima a 20 Hz, correspondiendo con la modificación implementada durante la etapa de filtrado del método propuesto en este estudio.

2. Materiales

Los EGMs empleados en este estudio fueron registrados durante procedimientos de AC, aprobados por el Comité Ético del Hospital y tras obtener el consentimiento informado de cada paciente, por un sistema CardioLab (General Electric, Wauwatosa, WI, USA). Este sistema utiliza un preprocesado, aplicando tanto un filtrado en hendidura a 50 Hz, para eliminar la interferencia de red eléctrica, como un filtrado paso banda entre 0.5-500 Hz para reducir el ruido de alta y baja frecuencia. Una vez obtenidas las señales, se remuestrearon a 1kHz. La base de datos empleada consistió en 10 EGMs de FA tipo I, 10 tipo II y 40 tipo III, de acuerdo al criterio de clasificación establecido por Wells [9]. Esta proporción entre tipos se estableció con el objetivo de que los resultados permitan validar el método fundamentalmente aplicado a CFAEs, pero manteniendo un buen desempeño sobre EGMs de FA tipo I y II. Cada EGM de la base de datos se anotó y clasificó por dos cardiólogos según el tipo de FA que presentaban.

3. Métodos

3.1. Filtrado

Una vez adquiridos los electrogramas, la primera etapa del preprocesado consistió en una reducción del ruido. Para ello, se aplicó un filtrado Wavelet sobre las señales, ya que ha demostrado ser mucho más efectivo que el filtrado por descomposición de modo empírico o el filtrado común, consiguiendo una mayor reducción de ruido y respetando en mayor medida la morfología de los electrogramas [10].

La segunda fase del filtrado está centrada en el acondicionamiento de las señales para facilitar, en la mayor medida posible, la etapa principal de detección de activaciones. En la actualidad, el filtrado desarrollado por Botteron y Smith en 1995 [11] continúa siendo la técnica de referencia para el filtrado de electrogramas. Dicha técnica está dividida en tres etapas diferentes, la primera de las cuales consiste en

un filtrado paso banda de 40-250 Hz, seguida por una rectificación de la señal resultante y el empleo de un filtro paso bajo cuya frecuencia de corte es de 20 Hz. Este preprocesado produce ondas de diferente amplitud proporcionales a las componentes de cada activación, en función de las frecuencias que presenten dentro de la banda de paso del filtro de 40-250 Hz.

Para establecer la etapa de filtrado del método, se llevaron a cabo estudios sobre el comportamiento del filtrado de Botteron en función del grado de fragmentación de los EGMs. Los análisis de su rendimiento para EGMs de FA tipo I y II dieron unos resultados excelentes, ya que sus activaciones suelen presentar componentes rápidas. Por el contrario, este filtrado aplicado sobre CFAEs no ofreció el rendimiento deseado, puesto que muchas activaciones lentas características de este tipo de EGMs no resultaban en una onda de amplitud suficiente para su detección. Estas observaciones sugirieron una reducción de la frecuencia de corte mínima del filtro paso banda de Botteron, que quedó determinada en 20 Hz tras análisis exhaustivos para optimizar su rendimiento. En la Figura 1 se ilustra un ejemplo de este análisis, reduciendo en primer lugar la frecuencia de corte a 30 Hz, dando lugar a la señal gris discontinua, y posteriormente a 20 Hz, que corresponde con la señal negra continua, configuración con la que se obtuvo la mejor respuesta para CFAEs. La reducción de la frecuencia de corte mínima por debajo de los 20 Hz, aunque resultaba en ondas óptimas para la detección de activaciones, se traducía en respuestas de amplitud elevada correspondientes con componentes de la línea base, lo que generaba errores posteriores por sobre-detección.

3.2. Tratamiento específico para CFAEs

Además de la mejora introducida con la reducción de la frecuencia de corte mínima del filtro paso banda de Botteron, la segunda etapa clave del preprocesado de los electrogramas para optimizar el proceso de detección se basa

Tipo FA	AM	TP	FP	FN	Acc	Se	P ⁺
Tipo I	527	527	0	0	100.00 % ± 0.00 %	100.00 % ± 0.00 %	100.00 % ± 0.00 %
Tipo II	531	531	0	0	100.00 % ± 0.00 %	100.00 % ± 0.00 %	100.00 % ± 0.00 %
Tipo III	3064	2906	107	158	91.95 % ± 5.15 %	95.05 % ± 4.82 %	96.58 % ± 2.68 %

Tabla 1. Resultados de detección obtenidos por el delineador de ondas de activación local en función del tipo de FA.

en una novedosa transformación de los valores de amplitud de la señal. Más concretamente, este procedimiento se realiza exclusivamente sobre los CFAEs, ya que consiste en una reducción de la variabilidad típica presente en estos, la cual se consigue provocando un aumento de amplitud más pronunciado de las activaciones pequeñas y más leve en las activaciones de gran amplitud. Por tanto, el método emplea un parámetro que estima el grado de fragmentación de los EGMs para clasificarlos en función del tipo de FA que presentan, de tal forma que se posibilita la aplicación de esta reducción de variabilidad en amplitud únicamente en los CFAEs.

3.3. Algoritmo de detección

El método propuesto realiza un proceso de adaptación continuo al grado de fragmentación de los EGMs, de tal manera que se permite la identificación de periodos en los que existe una transición entre tipos de FA. Siendo sensible a estas variaciones, el algoritmo puede aplicar la reducción de variabilidad de amplitud si el grado de fragmentación es suficientemente elevado. Para ello, el proceso de detección de activaciones se aplica sobre segmentos de 5 segundos de forma secuencial, manteniendo un solapamiento de un 25 % sobre los segmentos adyacentes para anticiparse a los posibles cambios en el grado de fragmentación de la señal. Por lo tanto, en estos intervalos de solapamiento, la redundancia en la detección se eludirá añadiendo al conjunto de detecciones finales, únicamente, las activaciones correspondientes al segmento que presente un mayor grado de fragmentación.

La detección principal se lleva a cabo estableciendo un umbral de amplitud fijo, por lo que todas las activaciones que presenten un pico máximo por encima de este umbral son seleccionadas. Sin embargo, si dos detecciones están situadas a menos de 50 ms entre sí, la activación que presente un pico máximo de amplitud inferior es excluida. A partir de las activaciones detectadas, el método estima la mediana de las LCAs, la cual es un valioso estimador de la frecuencia de activación que presenta el segmento analizado. De este modo, el algoritmo es capaz de localizar intervalos más largos que el promedio en ese segmento, los cuales son más propensos a presentar una activación pequeña en su interior cuanto mayor sea su duración. Por este motivo, la segunda fase de la detección de activaciones se basa en una búsqueda en estos segmentos, de manera que el umbral de amplitud se ve reducido para cada intervalo de manera proporcional a la longitud de éste.

Finalmente, cada una de las OALs es aislada empleando una ventana de ± 35 ms con el objetivo de calcular el baricentro de cada una de ellas. El baricentro, que se determina como el valor medio del área correspondiente a cada OAL

en valor absoluto, es utilizado para estimar de manera más precisa el tiempo de activación final de cada OAL. Además, la determinación de los baricentros añade al método una funcionalidad adicional que consiste en una segunda fase de eliminación de detecciones. En particular, si dos activaciones tienden a converger tras el cálculo de los baricentros y, además, ya no respetan el tiempo mínimo establecido de 50 ms, la activación que presente el pico de amplitud más bajo es eliminada.

3.4. Evaluación del método

El rendimiento del método se evaluó de manera independiente para cada tipo de FA, con el objetivo de analizar la evolución de los resultados de detección en función del grado de fragmentación de los EGMs. La evaluación se realizó comparando las activaciones detectadas con las anotadas manualmente por los dos cardiólogos. Cada una de las activaciones obtenidas por el método que se encontró dentro una ventana temporal de ± 40 ms con respecto a una anotación manual se consideró como un verdadero positivo (TP). Un falso positivo (FP) se definió como cada detección que quedó fuera de dicha ventana. Por último, si una anotación manual no englobaba ninguna activación detectada, quedaba etiquetada como falso negativo (FN). De este modo, la exactitud (Acc) se definió como

$$\text{Acc}(\%) = \frac{\text{TP}}{\text{TP} + \text{FP} + \text{FN}} \quad (1)$$

la sensibilidad (Se) como

$$\text{Se}(\%) = \frac{\text{TP}}{\text{TP} + \text{FN}} \quad (2)$$

y finalmente, la predictividad positiva (P⁺) como

$$\text{P}^+(\%) = \frac{\text{TP}}{\text{TP} + \text{FP}} \quad (3)$$

4. Resultados

Los resultados de detección obtenidos por el método propuesto, calculados en términos de exactitud, sensibilidad y valor predictivo positivo, se muestran en la Tabla 1, clasificados según el tipo de FA. La columna AM se corresponde con el número de anotaciones manuales totales realizadas por los dos cardiólogos para cada tipo de FA. Como se puede observar, el método propuesto realiza una detección óptima para FA tipo I y II, mientras que para tipo III comete aproximadamente un 8 % de error de exactitud. Además, se puede comprobar que alrededor de un 1.5 % más de errores son cometidos por no detectar una activación que por realizar una sobre-detección. Finalmente, los resultados detallados de la aplicación del método sobre los CFAEs de la base de datos se muestran en la Figura 2.

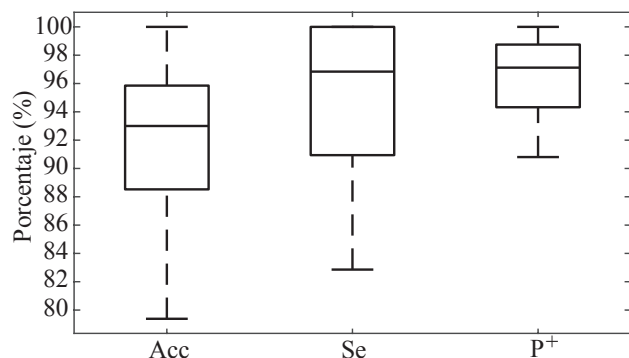


Figura 2. Resultados detallados de detección del delineador de ondas de activación local para CFAEs.

5. Discusión

Los buenos resultados alcanzados por el delineador presentado en este estudio se deben al alto rendimiento de todas y cada una de las etapas que lo componen. En primer lugar, el proceso de adaptación del método permite, además de su uso en aplicaciones en tiempo real, estimar continuamente el grado de fragmentación del EGM. Esto permite la realización de detecciones mucho más precisas si el segmento del EGM analizado es identificado como un CFAE, puesto que se aplica sobre éste la técnica de reducción de la variabilidad de amplitud. Esta otra fase ha demostrado ser fundamental para la obtención de los altos resultados de detección para EGMs de FA tipo III.

Por otro lado, tras los análisis llevados a cabo en cuanto al comportamiento del filtrado de Botteron sobre EGMs con diferente grado de fragmentación, surgió la necesidad de reducir la frecuencia de corte mínima del filtro paso banda para mejorar el rendimiento del filtrado sobre CFAEs. Esta disminución se realizó con el fin de que activaciones en las que predominaran las componentes lentas generasen, tras la etapa de filtrado, respuestas en amplitud lo suficientemente altas para poder ser detectadas posteriormente. Por consiguiente, el filtrado del método propuesto quedó establecido con la configuración definida por Botteron y Smith [11], siendo el aumento del intervalo de frecuencias de corte del filtro paso banda, de 40-250 Hz a 20-250 Hz, la única modificación introducida.

Por último, la estrategia híbrida de detección empleada por el método permite que la primera etapa asista a la segunda. De este modo, la detección por amplitud permite estimar el LCA promedio del EGM, lo cual es muy útil para localizar pequeñas activaciones en intervalos largos a posteriori, como realizan Ng et al. [12]. Sin embargo, a diferencia del método propuesto, estos no emplean ningún criterio de amplitud para esta detección, lo cual puede suponer cierto riesgo de cometer errores por sobre-detección.

6. Conclusiones

El método presentado ha demostrado ser un delineador preciso y robusto de EGMs en FA. Los excelentes resultados obtenidos para CFAEs, junto con el rendimiento óptimo para EGMs de FA tipo I y II, hacen de este método un candidato idóneo para ser empleado en aplicaciones clíni-

cas en tiempo real por ser, además, un método adaptativo. En consecuencia, este método puede ser utilizado para la creación de modelos auriculares más precisos empleando la LCA, permitiendo asistir, de manera más fiable, procedimientos de AC durante el rastreo de regiones que presenten CFAEs para su ablación, con el objetivo de evitar el mantenimiento de la FA de forma más efectiva.

Agradecimientos

Trabajo financiado por los proyectos TEC2014-52250-R y DPI2017-83952-C3 MINECO/AEI/FEDER, UE.

Referencias

- [1] Sheikh A, Patel NJ, Nalluri N, Agnihotri K, et al. Trends in hospitalization for atrial fibrillation: Epidemiology, cost, and implications for the future. *Progress in Cardiovascular Diseases* 2015;58(2):105-116.
- [2] Morin DP, Bernard ML, Madias C, Rogers PA, Thihalolipavan S, Estes NAM. The state of the art: Atrial fibrillation epidemiology, prevention, and treatment. *Mayo Clinic Proceedings* 2016;91(12):1778-1810.
- [3] Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D, Ahlsson A, et al. 2016 ESC guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. *European Heart Journal* 2016;37(38).
- [4] Zoni-Berisso M, Lercari F, Carazza T, Domenicucci S. Epidemiology of atrial fibrillation: European perspective. *Clinical Epidemiology* 2014;6(1):213-220.
- [5] Lau D, Schotten U, Mahajan R, Antic N, Hatem S, Pathak R, Hendriks J, Kalman J, Sanders P. Novel mechanisms in the pathogenesis of atrial fibrillation: Practical applications. *European Heart Journal* 2016;37(20):1573-1581.
- [6] Verma A, Jiang C, Betts T, Chen J, Deisenhofer I, Mantovan R, Macle L, Morillo C, Haverkamp W, Weerasooriya R, Albenque JP, Nardi S, Menardi E, Novak P, Sanders P, Investigators SAI. Approaches to catheter ablation for persistent atrial fibrillation. *The New England journal of medicine* 2015;372(19):1812-1822.
- [7] Kumagai K, Sakamoto T, Nakamura K, Nishiuchi S, Hayano M, Hayashi T, Sasaki T, Aonuma K, Oshima S. Combined dominant frequency and complex fractionated atrial electrogram ablation after circumferential pulmonary vein isolation of atrial fibrillation. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology* 2013;24(9):975-983.
- [8] Baumert M, Sanders P, Ganesan A. Quantitative-electrogram-based methods for guiding catheter ablation in atrial fibrillation. *Proceedings of the IEEE* 2016; 104(2):416-431.
- [9] Wells JL, Karp RB, Kouchoukos NT, MacLean WAH, James TN, Waldo AL. Characterization of atrial fibrillation in man: Studies following open heart surgery. *Pacing and Clinical Electrophysiology* 1978;1(4):426-438.
- [10] Martínez-Iniesta M, Ródenas J, Alcaraz R, Rieta JJ. Waveform integrity in atrial fibrillation: The forgotten issue of cardiac electrophysiology. *Annals of Biomedical Engineering* 2017;1-18.
- [11] Botteron GW, Smith JM. A technique for measurement of the extent of spatial organization of atrial activation during atrial fibrillation in the intact human heart. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 1995;42(6):579-586.
- [12] Ng J, Sehgal V, Ng JK, Gordon D, Goldberger JJ. Iterative method to detect atrial activations and measure cycle length from electrograms during atrial fibrillation. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 2014;61(2):273-278.

Imagen Biomédica I

Miércoles, 29 de Noviembre

Implementación Paralela de Secuencias de Resonancia Magnética mediante Programación en GPU

E. Moya-Sáez¹, D. Treceño-Fernández¹, R. de Luis-García¹, F. Simmross-Wattenberg¹, C. Alberola-López¹

¹ Laboratorio de Procesado de Imagen (LPI), ETSI de Telecomunicación, Universidad de Valladolid.

Resumen

La simulación de imágenes de resonancia magnética presenta gran utilidad en ámbitos como la investigación o la educación. No obstante, el principal problema de este tipo de simulaciones es el gran coste computacional que conllevan, lo cual se traduce en tiempos de ejecución muy elevados. Sin embargo, dado que el problema es intrínsecamente paralelo, en este trabajo se presenta una implementación de una secuencia de pulsos *spin echo* - *echo planar imaging* (SE-EPI) utilizando técnicas de computación paralela en GPU. Los resultados muestran que este tipo de técnicas permiten reducciones drásticas de los tiempos de ejecución del algoritmo, permitiendo así nuevas posibilidades a este tipo de simulaciones.

1. Introducción

El uso de la resonancia magnética para la obtención de imágenes médicas, es una potente técnica no invasiva en donde la variación de los distintos parámetros y secuencias toma un papel fundamental en cómo el contraste entre los diferentes tejidos queda plasmado en las imágenes. Una simulación detallada de las secuencias incluyendo un seguimiento de la magnetización a lo largo del tiempo es necesaria, entre otras cosas, para la simulación de artefactos como las inhomogeneidades de campo, desplazamiento químico, imperfección en los gradientes y otros [1,2]. Asimismo, resulta de gran utilidad con fines educativos para la formación de personal clínico [3]. No obstante, este tipo de simulaciones implican un elevado coste computacional, lo que se traduce en que, mediante una programación secuencial, los tiempos de ejecución sean muy altos. Sin embargo, debido a que las mismas operaciones deben realizarse para cada vóxel de la imagen, el problema es intrínsecamente paralelo. Por este motivo, la introducción de técnicas de computación paralela en unidades gráficas de procesado (GPUs) permite un ahorro relevante en los tiempos de cálculo.

Otras propuestas para la simulación de imágenes de resonancia magnética en GPU, concretamente mediante CUDA-C, han sido planteadas [4]. A pesar de ello, dado que el objetivo final del simulador aquí desarrollado es la ejecución en un entorno menos potente y multiplataforma se optó por una simplificación que supla mejor estas necesidades. Asimismo, se realiza un estudio sistemático de la influencia de las inhomogeneidades del campo.

En este artículo se plantea una implementación de la secuencia de pulsos *spin echo* - *echo planar imaging* (SE-

EPI) mediante programación en GPU. Para ello, se detallará el método utilizado y la implementación realizada. Adicionalmente, se analizarán las imágenes obtenidas y se realizará un análisis de las medidas de rendimiento del algoritmo implementado en términos de tiempos de ejecución, en comparación con una implementación secuencial y mediante matrices *sparse* [5] del mismo.

2. Método

En la Figura 1 aparece representado un diagrama de bloques del simulador implementado.

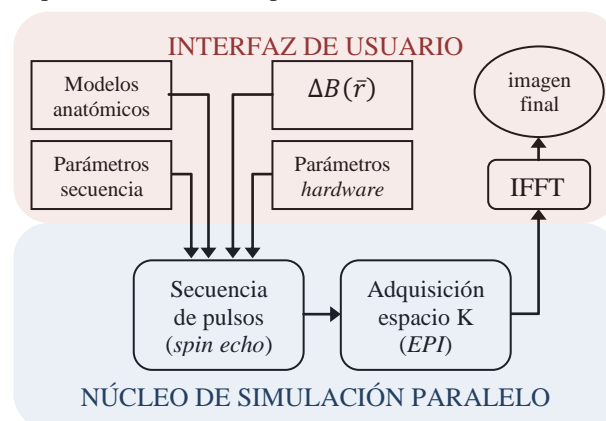


Figura 1. Diagrama de bloques del simulador.

2.1. Modelos anatómicos

La simulación usa como base un modelo anatómico formado por tres volúmenes contenedores de la información característica del tejido, es decir, el tiempo de relajación longitudinal (T1), el tiempo de relajación transversal (T2) y la densidad de protones (DP). El modelo utilizado a lo largo de este artículo es un *slice* de un corte axial del cerebro obtenido de una adquisición de resonancia magnética.

2.2. Secuencia de pulsos

En la Figura 2 está representada la secuencia de pulsos SE tratada en este artículo. No obstante, el método para la implementación de otra secuencia sería similar variando el orden, número y *flip angle* α de los pulsos.

El método que aplica la secuencia de pulsos sigue la expresión algebraica proveniente de la ecuación de Bloch, que describe la evolución el vector de magnetización neta M en el tiempo [6].

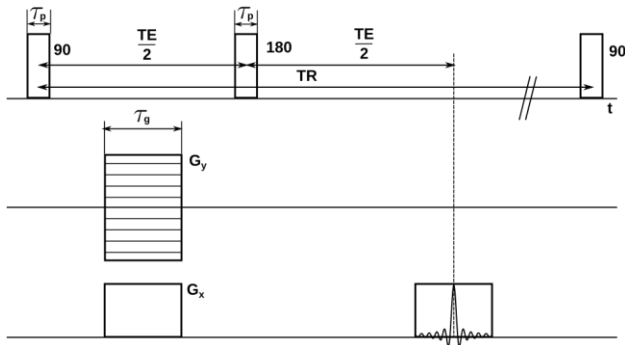


Figura 2. Diagrama de la secuencia spin echo.

$$\frac{d\mathbf{M}}{dt} = \gamma(\mathbf{M} \times \mathbf{B}_{eff}) - \frac{M_x \hat{i} + M_y \hat{j}}{T_2} - \frac{(M_z - M_z^0) \hat{k}}{T_1} \quad (1)$$

Donde γ es la constante giromagnética. M_x , M_y , y M_z , representan las componentes de \mathbf{M} en cada dirección, M_z^0 es el valor de equilibrio de \mathbf{M} bajo la presencia únicamente del campo magnético estático B_0 . Por otro lado, \mathbf{B}_{eff} representa el campo magnético total al que están sometidos los espines del tejido, y se puede expresar como:

$$\mathbf{B}_{eff}(\vec{r}, t) = (xG_x(t) + yG_y(t))\vec{z} + \Delta B(\vec{r})\vec{z} + B_1\vec{x} \quad (2)$$

La resolución de la expresión vectorial de la ecuación (1), se realiza mediante operaciones matriciales sencillas de rotación y escalado [7]. Se pueden distinguir tres partes principales en la secuencia de pulsos:

- **Pulsos de RF:** en esta secuencia se aplican pulsos de 90° y 180° de duración τ_p segundos y amplitud constante B_1 que tendrán un valor dependiente del ángulo de giro. Dado que existe una inhomogeneidad de campo $\Delta B(\vec{r})$ función de cada punto del slice excitado, se producirá un efecto de *off-resonance* [6]. A efectos prácticos, la aplicación del pulso de RF es equivalente a aplicar una rotación sobre el vector de magnetización neta \mathbf{M} , por lo que será implementado mediante matrices de rotación [7].
- **Gradientes del campo magnético estático:** la aplicación de los gradientes en las direcciones de codificación de frecuencia y de fase (direcciones X e Y respectivamente), junto con la inhomogeneidad del campo, provocarán una rotación del vector de magnetización. Esto es simulado de igual modo mediante matrices de rotación [7].
- **Relajación de la señal:** tras la excitación de la señal, esta sufre un proceso de relajación, que es simulado mediante matrices de escalado [7].

Una explicación más detallada sobre el método para aplicar la secuencia de pulsos se puede encontrar en [5].

2.3. Adquisición del espacio K

Para la adquisición del espacio K se hace uso de la secuencia *EPI*. Esta secuencia se caracteriza por la obtención de un tren de ecos dirigidos por gradientes (gradientes de lectura en la dirección de codificación de frecuencia, junto con gradientes *blip* en la dirección de codificación de fase). Por este motivo se consiguen

imágenes en tiempos de captación muy breves (decenas de milisegundos) en comparación con otras secuencias [8]. En la secuencia *single-shot EPI* todo el espacio K se adquiere a partir de una única excitación de RF (*shot*). Esto trae consigo que se produzca una elevada atenuación de la señal. Una solución ampliamente utilizada para resolver este problema son las secuencias *multi-shot EPI*, en la que el espacio K se adquiere por bloques en función de un parámetro conocido como *Echo Train Length* (ETL) [8]. En una adquisición rectilínea del espacio K existen diferentes formas de ir adquiriendo los distintos bloques. Algunas de ellas se muestran en la Figura 3.

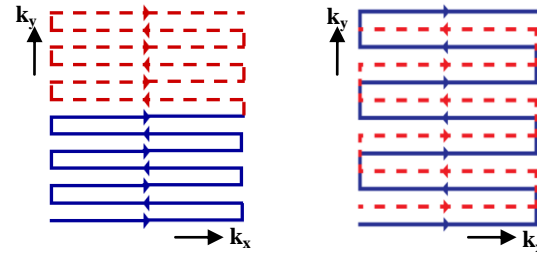


Figura 3. Recorrido del espacio K en secuencias multi-shot EPI secuencial (izquierda) y con interlineado (derecha).

3. Implementación

En la implementación realizada, como se puede ver en la Figura 1, se distinguen dos partes, la interfaz gráfica de usuario y el núcleo paralelo de simulación.

3.1. Interfaz gráfica de usuario

Se crea una interfaz gráfica de usuario en MATLAB con el objetivo de aumentar la usabilidad de la aplicación. En la interfaz se pueden seleccionar los modelos anatómicos de partida, así como modificar de forma dinámica algunos parámetros de la simulación tales como el mapa de inhomogeneidad del campo, el TE (tiempo de eco) y TR (tiempo de repetición), el ETL, el número de pulsos preparatorios y la forma de escritura del espacio K (secuencial o con interlineado). Una vez se han configurado todos los parámetros, desde la interfaz se ejecuta el núcleo de simulación paralelo, el cual retorna el espacio K correspondiente a la imagen simulada. Finalmente, en la interfaz se realiza la reconstrucción de la imagen y se muestra.

3.2. Núcleo de simulación paralelo

Se desarrolla un algoritmo para la simulación de síntesis de imágenes de resonancia magnética, utilizando la API y el lenguaje de programación OpenCL. Los *kernels* están diseñados buscando un paralelismo a nivel de datos. Este paralelismo explota el hecho de que cada vóxel del modelo anatómico puede ser tratado independientemente del resto. Siguiendo el método expuesto, se divide la secuencia de pulsos en cuatro fases separables, para las cuales se desarrollan *kernels* fácilmente reutilizables:

- **Pulsos de RF:** se crea un *kernel* que permita simular la aplicación de un pulso de RF de α grados.
- **Gradientes:** se crean varios *kernels* que permitan calcular los ángulos de rotación de la magnetización como consecuencia de los gradientes. Asimismo, se

desarrollan *kernels* para simular la aplicación de esos gradientes.

- **Relajación de la señal:** se crea un *kernel* para simular la relajación de la señal durante distintos intervalos de tiempo de acuerdo con la secuencia de pulsos implementada.
- **Espacio K:** se implementan varios *kernels* que permitan adquirir una línea del espacio K. Para ello es necesario sumar todos los elementos de la componente X (parte real del espacio K) y la componente Y (parte imaginaria del espacio K) de la magnetización para cada instante de tiempo.

El primer paso llevado a cabo en el algoritmo es la creación de objetos de memoria que permitan transferir datos desde la memoria de host (CPU) a la memoria global de la GPU y viceversa. Concretamente, se crean objetos de memoria contenedores del modelo anatómico y del mapa de inhomogeneidad del campo. Posteriormente, los *kernels* se instancian en un orden dependiente de la secuencia de pulsos a implementar. En cada *kernel* se computa en paralelo el nuevo vector de magnetización correspondiente a cada vóxel del modelo anatómico como consecuencia de los eventos producidos en la secuencia de pulsos. Para el caso concreto de la secuencia SE-EPI planteada en este artículo, se aplican pulsos de 90° y 180° , relajaciones de la señal un tiempo $TE/2$ y gradientes en las direcciones de fase y frecuencia para situarse en el punto deseado del espacio K. El orden seguido es el que muestra la Figura 2. Para la adquisición del espacio K, la cual se realiza de acuerdo a alguna de las dos trayectorias representadas en la Figura 3, se aplica por cada línea un gradiente de lectura en la dirección de codificación frecuencia y un gradiente *blip* en la dirección de codificación de fase. Una vez la secuencia de pulsos haya concluido se transfiere el objeto de memoria correspondiente al espacio K (ya adquirido en su totalidad) de la memoria global de la GPU a la memoria del *host*. El contenido de este objeto de memoria se corresponde con la salida retornada por el núcleo de simulación paralelo.

4. Resultados

4.1. Medidas de rendimiento

Para analizar las medidas de rendimiento del algoritmo, se realiza un experimento de reconstrucción de un corte axial de resonancia cerebral para distintos tamaños de imagen. El experimento se lleva a cabo utilizando una máquina con procesador *Intel Xeon* de 2.30 GHz con 27 núcleos e *hyperthreading* y con 64GB de memoria RAM. La GPU utilizada es una *AMD Radeon RX 480* con 8GB de memoria RAM y *device* con versión *OpenCL 1.2 AMD-APP*. Se estima el tiempo de ejecución del núcleo paralelo de simulación a partir de 1000 mediciones del mismo. Tras aplicar a los datos el test de Lilliefors y comprobar que no se cumplía la hipótesis de normalidad con un nivel de significación del 5%, se opta por presentar los resultados de forma no paramétrica. En la Tabla 1 se puede observar la mediana (Me) y el rango intercuartil (IQR) de los tiempo de ejecución empleados por cada una de las implementaciones [5].

Tamaño	64 x 64		128 x 128		256 x 256	
	Me	IQR	Me	IQR	Me	IQR
Secuencial	73.65	-	1040.30	-	16762.31	-
<i>Sparse</i>	23.80	-	413.76	-	7335.70	-
Paralelo	0.28	0.009	0.30	0.011	0.35	0.011

Tabla 1. Me e IQR del tiempo de ejecución (en segundos) para las distintas implementaciones y tamaños de imágenes.

4.2. Imágenes simuladas

Para comprobar el correcto funcionamiento del algoritmo, se llevan a cabo varios experimentos de reconstrucción de un corte axial de resonancia cerebral con tamaños de imagen de 256x256 píxeles. En un primer experimento, con el objetivo de examinar las diferencias entre *single-shot SE-EPI* y *multi-shot SE-EPI*, se varía el número de *shots* utilizados para adquirir el espacio K correspondiente a la imagen (uno y cuatro *shots*) sin la existencia de una inhomogeneidad del campo.

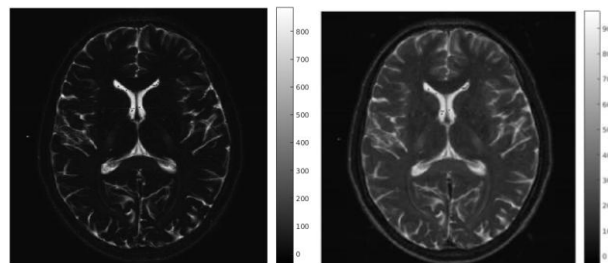


Figura 4. Reconstrucción simulada de la imagen con un *shot* (izquierda) y cuatro *shots* (derecha).

En la Figura 4 se puede observar que, como era de esperar, al aumentar el número de *shots* que se utilizan para adquirir el espacio K, el nivel de intensidad de la imagen y, por consiguiente el nivel de señal es mayor dado que la señal se atenúa menos.

En sucesivos experimentos se varían los mapas de inhomogeneidades del campo magnético en imágenes obtenidas mediante *single-shot SE-EPI*. Con el fin de facilitar la observación de los efectos de la inhomogeneidad, las imágenes han sido realizadas mediante una corrección gamma con factor 0.7.

Un mapa de inhomogeneidad de campo constante (Figura 5 a1) provoca un desplazamiento de la imagen en la dirección de codificación de fase Y (Figura 5 b1). Por otro lado, un mapa de inhomogeneidad del campo en forma de gradiente en la dirección de codificación de frecuencia X (Figura 5 a2), da lugar a un *shearing* en la imagen (Figura 5 b2), mientras que un gradiente en la dirección de codificación de fase Y (Figura 5 a3) da lugar a un escalado de la imagen (Figura 5 b3). Por último, en las Figuras 5 b4 y 5 b5 está representado el efecto sobre las imágenes de inhomogeneidades de campo en forma de funciones sinusoidales en las direcciones X e Y respectivamente (Figuras 5 a4 y 5 a5).

Se puede comprobar que el efecto de la inhomogeneidad de campo para el caso de una secuencia *single-shot SE-EPI*, es equivalente a aplicar una translación de los puntos del espacio imagen de acuerdo a la ecuación (3).

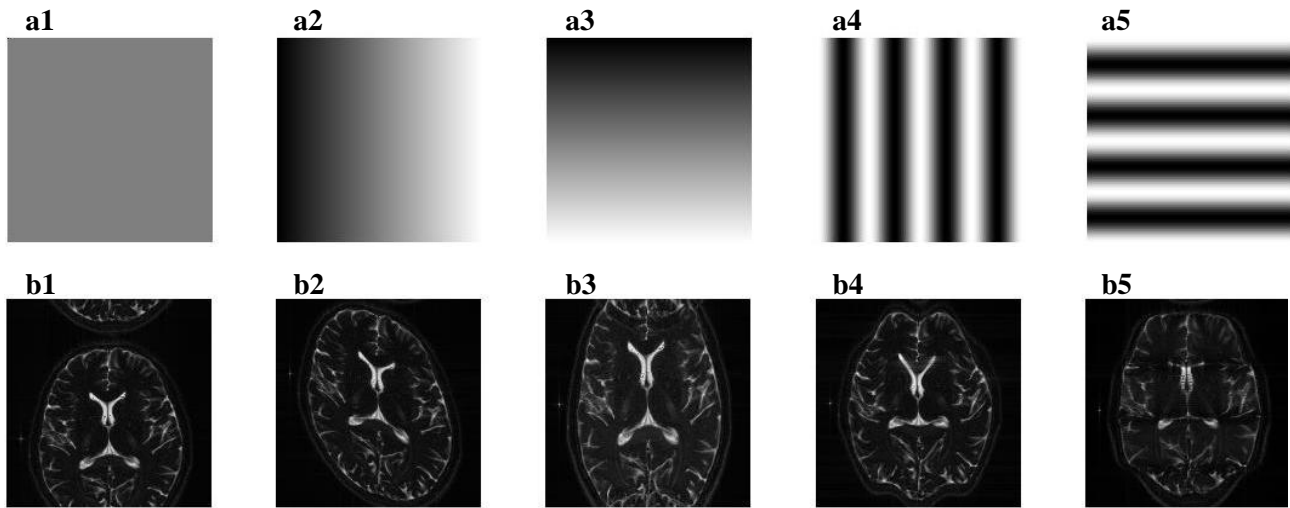


Figura 5. Parte superior, mapas de inhomogeneidad del campo simulados: constante de amplitud $5 * 10^{-6} T/m$ (a1), gradiente en X de amplitud entre $\pm 5 * 10^{-6} T/m$ (a2), gradiente en Y de amplitud entre $\pm 5 * 10^{-6} T/m$ (a3), sinusoidal en X de amplitud entre $\pm 9 * 10^{-7} T/m$ (a4), sinusoidal en Y de amplitud entre $\pm 9 * 10^{-7} T/m$ (a5). Parte inferior, reconstrucciones simuladas de las imágenes para los distintos mapas de inhomogeneidad del campo.

$$i'(x', y') = i\left(x - \frac{\Delta B(\vec{r})}{G_x}, y - \frac{\Delta B(\vec{r})(T_{acq} + \tau_g)}{G_y \tau_g}\right) \quad (3)$$

Donde $i'(x', y')$ representa la imagen considerando una inhomogeneidad del campo $\Delta B(\vec{r})$, siendo $i(x, y)$ la imagen original sin inhomogeneidad. G_x es el valor del gradiente en la dirección de codificación de frecuencia, G_y el del gradiente en la dirección de codificación de fase, T_{acq} el tiempo de adquisición de una línea del espacio K y τ_g el tiempo de aplicación del gradiente *blip*.

Nótese que todos los efectos sobre las imágenes se manifiestan, principalmente, en la dirección de codificación de fase Y, debido al menor ancho de banda en esta dirección.

5. Conclusiones y líneas futuras

La implementación aquí planteada adolece de ciertas limitaciones, tales como que no se han considerado los desfases que pudiera introducir la inhomogeneidad del campo magnético en algunos intervalos de tiempo (desde el final del pulso de 90° al inicio de los gradientes en las direcciones de codificación de frecuencia X y de fase Y, o desde el final de estos al comienzo del pulso de 180°). Asimismo, para poder obtener simulaciones más realistas sería interesante incluir fenómenos de *slew rate* en los gradientes, y considerar otros efectos que se producen en la práctica como el desplazamiento químico. Por otro lado, es importante señalar que la relajación de la señal entre las distintas líneas del espacio K que se adquieren a partir de una única excitación de RF se ha realizado a razón de T_2 en lugar de T_2^* . Efectuar una relajación a razón de T_2^* requeriría una simulación con múltiples *isochromats*.

No obstante, se ha demostrado que la implementación mediante programación en GPU con OpenCL de esta secuencia de pulsos para la simulación de imagen de resonancia magnética, permite una reducción drástica de

los tiempos de ejecución con respecto a una implementación secuencial de la misma.

Agradecimientos

Los autores agradecen al MINECO por el proyecto TEC2014-57428-R y a la Junta de Castilla y León por el proyecto VA069U16.

Referencias

- [1] Benoit-Cattin H et al., The SIMRI Project: a versatile and interactive MRI simulator. *Journal of Magnetic Resonance*, vol 173, no 1, 2005, pp 97-115.
- [2] Xanthis CG et al., Block-Based MRI System Simulator Considering Realistic Electromagnetic Fields for Calculation of Signal, Noise and Specific Absorption Rate. *Magnetic Resonance in Medicine*, vol 72, no 1, 2014, pp 237-247.
- [3] Rundle D et al., Magnetic resonance imaging simulator: A teaching tool for radiology. *Journal of digital imaging*, vol 3, no 4, 1990, pp 226-229.
- [4] Xanthis CG et al., MRISIMUL: A GPU-Based Parallel Approach to MRI Simulations. *IEEE Trans. on Medical Imaging*, vol 33, no 3, 2014, pp 607-617.
- [5] Treceño D, Calabia J, de Luis R, Alberola C. Una implementación Eficiente No Paralela de Secuencias de Resonancia Magnética mediante Matrices Sparse. Actas del XXXIV Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB'16), Valencia, 2016, pp 177-180 (ISBN: 978-84-9048-531-6).
- [6] Liang ZP and Lauterbur PC. Principles of magnetic resonance imaging. A signal processing perspective. IEEE Press Series in Biomedical Engineering, 2000.
- [7] Bittoun J et al., A Computer Algorithm for the Simulation of Any Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Imaging Method. *Magnetic Resonance Imaging*, vol. 2, no 2, 1984, pp 113-120.
- [8] Bernstein MA et al., Handbook of Pulse Sequences. Elsevier Academic Press, 2004.

Desarrollo de algoritmos automáticos para evaluar la calidad de imagen en TC y RM

P. Moreno Ruiz¹, E. Ruiz Martínez², Á. Alberich-Bayarri^{2,3}, L. Martí-Bonmatí^{2,4}, D. Vivas Consuelo⁵

¹ Universidad Politécnica de Valencia, España.

² Grupo de Investigación Biomédica en Imagen (GIBI2^30), Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia, España.

³ QUIBIM SL, Quantitative Imaging Biomarkers in Medicine, Valencia, España.

⁴ Área Clínica de Imagen Médica, Hospital Universitario i Politécnico de La Fe, Valencia, España.

⁵ Centro de Investigación de economía y gestión de la salud, Valencia, España.

Resumen

Introducción: La demanda de técnicas de imagen para el diagnóstico clínico ha impuesto la necesidad de controlar la calidad de las imágenes de la práctica hospitalaria. Para ello, es necesario un método objetivo para evaluar los equipos y su variación con el tiempo relacionado con las modificaciones de las técnicas de adquisición. **Objetivo:** Desarrollar una metodología automatizada integrada en un software que calcule los parámetros de calidad de imagen de una forma reproducible y rápida. **Metodología:** Sobre las imágenes almacenadas e identificadas en el PACS de Tomografía Computarizada (TC) y Resonancia Magnética (RM) en los controles de calidad semanales, se ejecutan automáticamente dos algoritmos que calculan los parámetros de calidad según las recomendaciones del Protocolo Español de Control de Calidad. Los fantomas utilizados están formados por módulos de análisis para la medida objetiva de parámetros de TC (uniformidad, ruido, textura, resolución espacial y contraste), y RM (espesor de corte, uniformidad y relación señal-ruido). Las variables calculadas se exportan para su almacenamiento y gestión como indicadores en Base de Datos. **Resultados:** El método aplicado a las imágenes seleccionadas de cada módulo, según un criterio predefinido, ha obtenido resultados satisfactorios permitiendo seguir en el tiempo los parámetros de calidad y minimizando la variabilidad de resultados, eliminando la componente manual del análisis. **Conclusiones:** Considerando los algoritmos de cálculo de los parámetros en TC y RM, la herramienta es fiable, reproducible y rápida por cumplir con las tolerancias establecidas, por lo que podría introducirse como estándar de control de calidad de TC y RM.

1. Introducción

Dado que los diagnósticos radiológicos se basan en el estudio y evaluación de las imágenes obtenidas en los equipos, existe una controversia acerca de la calidad de estas imágenes y los posibles efectos nocivos que conlleva la radiación utilizada [1]. Debido a este equilibrio entre la calidad de imagen necesaria y la disminución de la dosis de radiación administrada, en el caso de la tomografía computarizada (TC) o bien el tiempo de adquisición, en el

caso de la Resonancia Magnética (RM), se ha considerado necesario elaborar métodos de evaluación y de estudio de la calidad de la imagen generada [2]. Para realizar esos controles de calidad, el Protocolo Español de Control de Calidad en Radiodiagnóstico (2011) garantiza la calidad de las imágenes adquiridas sobre maniqués en los que se miden determinados parámetros definidos en la bibliografía [3], [4]. Estos parámetros de calidad deben poder emplearse en las imágenes adquiridas con Tomografía Computarizada (TC) y Resonancia Magnética (RM).

2. Objetivos

Desarrollar una metodología automatizada e integrada en una herramienta software que calcule los parámetros de calidad de imagen de una forma reproducible y en tiempo real en TC y RM.

Para ello, este objetivo se estructura en tres objetivos específicos: 1) Elaboración de una herramienta que detecte automáticamente los módulos del fantoma en los estudios de TC y de RM adecuados para calcular cada uno de los parámetros de calidad de imagen en un formato de fichero estándar. 2) Evaluación de los parámetros de calidad de TC y de RM para identificar cuáles son automatizables. 3) Análisis de la calidad de imagen mediante la comparación de los resultados de los parámetros de calidad, con los valores estándar establecidos en el Protocolo español de calidad en radiodiagnóstico 2011, para comprobar la fiabilidad y reproductividad del algoritmo [4].

3. Material y métodos

El proyecto se realizó en el Área de Imagen Médica del Hospital Universitari i Politécnic La Fe utilizando Matlab2015 (Mathworks Inc., Natick, MA, USA) como herramienta de programación. Las imágenes estaban en formato *Digital Imaging and Communication in Medicine (DICOM)*.

3.1. Parámetros de adquisición

El algoritmo de control de calidad del proyecto asume que los parámetros de adquisición en la configuración de los

equipos son los mismos y siguen un protocolo concreto que el centro estableció como procedimiento de control. Por lo que, tras evaluar distintos estudios de maniqués para averiguar las condiciones más satisfactorias para el estudio, se seleccionaron las imágenes con esas características.

- Tomografía Computarizada:

Se eligieron imágenes adquiridas mediante TC helicoidal con un espesor de corte de 2 mm, dado su reducido nivel de ruido comparado con espesores menores. Se utilizó un kilovoltaje de 120 kV y un miliAmperaje de 150 mA acordado por los expertos adecuado para el estudio.

- Resonancia Magnética:

La adquisición se realizó con un tipo de secuencia T1, dada su utilidad para evaluar la morfología [5]. Los parámetros que deben coincidir necesariamente en las imágenes de RM a comparar son: ‘StudyDescription’, ‘EchoTime’ y ‘RepetitionTime’. En este caso, las imágenes tenían un tiempo de repetición, TR (*RepetitionTime*) de 30 ms, un tiempo de eco, TE (*EchoTime*) de 4.3260 ms y un FlipAngle de 30 [6], [7].

3.2. Calidad de imagen

En el presente trabajo se calculan los parámetros de calidad técnica para obtener indicadores óptimos de calidad. Esto es útil para el radiólogo, aunque no tenga como objetivo directo el diagnóstico.

- Parámetros calidad de imagen en Tomografía Computarizada:

Una buena imagen TC debe tener una calidad de imagen suficiente para que los radiólogos puedan examinar correcta y eficientemente, manteniendo la dosis al paciente lo más baja posible. Por ello, es necesario, tanto la selección de parámetros técnicos de control de la exposición y de la visualización de las imágenes, como de parámetros de medición de las propiedades físicas del equipo. Así pues, el estudio medirá cuantitativamente los siguientes parámetros de las propiedades físicas en maniqués de calidad para obtener la calidad de imagen técnica: La uniformidad o la similitud del valor en Unidades Hounsfield de cada píxel dentro de un área limitada; el ruido o variación local de las Unidades Hounsfield o HU de cada elemento individual de una Región de interés (ROI) homogénea; la resolución espacial que mide el tamaño de detalle cuando solo hay una pequeña diferencia de densidad en el área circundante, es decir, cuando la resolución de contraste es baja; y la textura que caracteriza una imagen en su conjunto y no pixel a pixel [8], [9], [10].

- Parámetros calidad de imagen en Resonancia Magnética:

Los parámetros más importantes para evaluar la calidad de imagen en equipos de RM son: la frecuencia central de resonancia ya que su variación conlleva cambios en la intensidad de campo magnético, lo que afecta a la sensibilidad del sistema y a la relación señal-ruido; la uniformidad como comprobación de que el equipo produce

una señal constante cuando se visualiza un objeto con características homogéneas; el espesor de corte, cuya variación puede dar lugar a un contraste inadecuado en las imágenes y una variación en la relación señal-ruido la cual mide la proporción de señal con respecto al ruido en la imagen [11],[5],[12].

3.3. Maniqué de calidad

Es necesario que las condiciones durante todas las adquisiciones sean lo más homogéneas posibles. Por eso, se utilizan maniqués de calidad colocados correctamente en todas las adquisiciones. Son estructuras compuestas de distintos materiales con las condiciones necesarias para medir los parámetros de calidad especificados. En el caso del presente trabajo se utilizaron maniqués de cabeza.



Figura 1. Maniqué RM



Figura 2. Maniqué TC

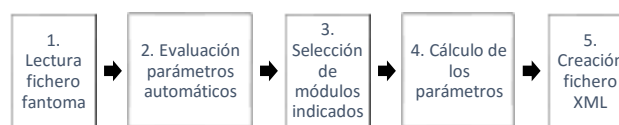
3.4. Esquema del código

Se utilizó como guía para generar la nueva herramienta un algoritmo base obtenido de un trabajo final de master para el caso de TC y un segundo algoritmo para RM obtenido del grupo de investigación asociado al Servicio de Radiología: GIBI2³⁰ [10]. En ambos casos, el proceso se basa en la adquisición de las imágenes de TC o de RM para el cálculo de los parámetros de calidad indicados en cada caso.

4. Resultados

4.1. Algoritmo TC y RM

Este es el esquema general que se siguió para la elaboración del algoritmo tanto de TC como de RM:



En primer lugar, se realiza la lectura del fichero del estudio DICOM introduciendo al algoritmo como parámetros de entrada: la ruta del fichero DICOM en el dispositivo, la ruta de salida donde almacenar los resultados y un número identificador necesario para posteriores usos. En segundo lugar, fue necesario evaluar los parámetros para seleccionar aquellos que fueran automatizables, con el fin de que pudieran calcularse sin ayuda de un usuario. A partir de esa selección, se calcularon los parámetros en los módulos indicados para cada uno de ellos:

- TC: Se seleccionó el módulo de homogeneidad para calcular el parámetro del ruido, la uniformidad, y la

textura, y el módulo de la capa varillas, para el cálculo de la resolución espacial y la de contraste. Para el caso de la uniformidad, se seleccionaron 5 matrices o regiones de interés no solapadas, tal y como muestra la imagen 1 con el objetivo de comparar cada una de ellas con la matriz central. Esto, da como resultado una matriz 4x4 con las diferencias de las ROI 1,2,3 y 4 con la central. Para el cálculo del ruido, se seleccionaron dos ROI: una la del centro de la imagen correspondiente a la zona de agua, y otra en el exterior, correspondiente a la zona de aire del fantoma. De esta forma se calculó el porcentaje de ruido en la imagen. La textura se obtiene a partir del cálculo de la entropía y la matriz de coocurrencia de la matriz central. Esta matriz de coocurrencia 4x4, está compuesta por un valor correspondiente a la Homogeneidad, contraste, energía y correlación respectivamente (Figura 3).

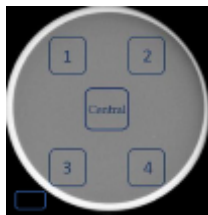


Figura 3. Módulo de homogeneidad.

La resolución espacial, se evaluó a partir del cálculo de la Función de Transferencia de Modulación o MTF al 10% de varios puntos del elemento correspondiente a la varilla de plexiglás ya que es la que presenta mayor contraste con respecto al fondo (1). Por último, la resolución de contraste se basa en el cálculo de la diferencia entre el valor medio de los píxeles dentro del plexiglás (2) y el de los píxeles de cada fila de orificios (Figura 4).



Figura 4. Módulo de capa varillas

- RM: se seleccionó un módulo de uniformidad para el cálculo de la relación señal-ruido (RSR) y la uniformidad (UI) (Figura 5). En ambos casos se seleccionó una ROI en el interior del módulo y, en el caso de la RSR, otra en el exterior (fondo). A partir de ahí, para calcular la uniformidad integral se calcularon la señal máxima y mínima de la ROI y para la RSR, la señal promedio de la matriz y la desviación típica correspondiente al valor del ruido. Para el cálculo del espesor de corte, fue necesario un módulo específico (Figura 6). Mediante el uso de rampas de ángulo conocido, y evaluando la anchura a media altura o FWHM del perfil se puede calcular el espesor de corte estimado en imagen. El valor de la frecuencia central de resonancia se obtuvo directamente de la cabecera DICOM de las imágenes, donde se almacena la información de cada imagen.

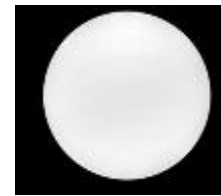


Figura 5. Módulo homogéneo maniquí de calidad de RM.

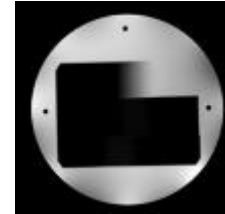


Figura 6. Módulo espesor de corte maniquí de calidad de RM.

Por último, una vez calculados los valores de los parámetros, para poder utilizar los resultados obtenidos, se necesitó obtenerlos en un formato específico, en este caso, en un fichero XML, con el fin de leerlos en futuras aplicaciones.

4.2. Análisis de la calidad de imagen

La evaluación del algoritmo se llevó a cabo comparando los resultados obtenidos con las tolerancias del Protocolo Español de control de calidad de 2011.

Para el algoritmo de RM, el parámetro de uniformidad integral cumple con el valor del protocolo español ya que supera el 82% establecido, al igual que en el caso del espesor de corte. En cuanto a la RSR, se comparó con los valores de los registros realizados hasta la fecha en el área de imagen médica de la Fe, los cuales establecían un valor medio de 42 con una desviación típica de 5, siendo el umbral mínimo de 32 [13]. Por tanto, se obtuvieron resultados coherentes con lo esperado. Por último, la frecuencia de resonancia se evalúa observando su variación diaria, que debe estar por debajo de 1.5ppm, por lo que es necesario un mínimo de dos adquisiciones.

Algoritmo RM	VALOR REAL	VALOR DEL PROTOCOLO
UI	93,91 %	≥ 82 %
RSR	47,64	≈ 42 (*)
ESPESOR DE CORTE	10,74 %	< 15 %
FR	127,7351	--

Tabla 1. Comparación valor real vs. Valor protocolo RM. (*) Valor de referencia establecido por el equipo del Área de Imagen Médica de la Fe.

En el caso del algoritmo de TC, se pudo comparar entre dos estudios, por lo que los resultados obtenidos son más robustos. En ambos casos, el valor del ruido cumple con lo establecido por el protocolo. En cuanto a la resolución de contraste, es posible visualizar los elementos de diámetro de 3,5 mm e incluso menor en los dos casos, con contrastes menores al 3%. Los valores reales representan los valores de la fila de orificios con menor diámetro, ya que, si estos cumplen las tolerancias establecidas, el resto también. Los valores de las diferencias de las ROIs 1,2 y 4 con la central

cumplen con los valores del protocolo mientras que la de la ROI 3 se excede 2 UH. Lo que significa que en esta zona de la imagen hay más heterogeneidad de lo normal. Aun así, no es una diferencia significativa. Para la resolución espacial se calculó el promedio de los valores de la MTF al 10% de los 15 puntos seleccionados para obtener un valor aproximado del parámetro. Todos ellos están entorno al valor del protocolo. Por último, los valores de entropía muestran que el estudio 1 tiene mayor desorden en los valores de los píxeles de la matriz seleccionada que el estudio 2 lo que concuerda con los valores de energía, contraste, homogeneidad y correlación de la matriz de ocurrencia, caracterizando la textura.

Algoritmo TC:	Valores reales		Valores protocolo
Ruido	0,2957 %	0,2831 %	$\leq 0,5\%$
Uniformidad	ROI 3 > 5 UH	ROI 3 > 5 UH	± 5 UH
Resolución espacial	0,6347 pl/mm	0,6297 pl/mm	≈ 6 pl/cm
Resolución contraste	1 mm diámetro 2,841% contraste	1 mm diámetro 4,680 % contraste	3,5 mm diámetro y 3% contraste
Textura (entropía)	0,8324	0,7543	---

Tabla 2. Comparación valor real vs valor protocolo en TC.

5. Discusión

La principal ventaja del proyecto comparado con las herramientas existentes es la eliminación de la intervención humana consiguiendo un sistema reproducible, rápido, preciso y fiable independiente del usuario. Esto permitirá a los radiólogos realizar una evaluación del funcionamiento de los equipos diaria. Con la aplicación del protocolo de análisis de calidad del presente trabajo, que analiza de forma sistemática los estudios, se incrementará la realización de exploraciones de control para conocer el estado de los equipos, aumentando el número de estudios a analizar.

Las líneas de desarrollo futuro del proyecto, van enfocadas a tres aspectos. El primero, la utilización de imágenes de pacientes en lugar de fantasmas haciendo más real el estudio. El segundo y más importante: el análisis de cada parámetro de calidad de forma continua en el tiempo. Esta técnica mejoraría la eficiencia del área de radiología porque permite detectar errores en un sistema con numerosas variables, analizando cada parámetro de forma independiente mediante gráficos de control estadístico. Se establecerán unos límites de control superiores e inferiores que permiten identificar los distintos comportamientos de las variables (cambios bruscos, tendencias descendentes, etc.). El tercero y, a raíz de las líneas anteriores, se realizará un estudio para la inclusión de nuevos parámetros recogidos en la literatura científica como la medida de imágenes falsas o fantasma en RM, útil para detectar artefactos de movimiento [14].

6. Conclusiones

Los algoritmos desarrollados cumplen con las premisas de fiabilidad y reproducibilidad establecidas en el Protocolo. Específicamente, para cada una de las tecnologías aplicadas podemos extraer que, en TC, todos los parámetros tienen resultados fiables y reproducibles dado que cumplen las tolerancias establecidas. En el caso de la textura, sus resultados son coherentes entre ellos, no existiendo valores de referencia. En RM el espesor de corte y la uniformidad cumplen con las tolerancias del protocolo, los valores de la RSR son fiables dado que coinciden con los establecidos por los expertos. Para la frecuencia de resonancia son necesarios estudios realizados durante un tiempo determinado.

Referencias

- [1] C. Candela-Juan, A. Montoro, E. Ruiz-Martínez, J. I. Villaescusa, and L. Martí-Bonmatí, "Current knowledge on tumour induction by computed tomography should be carefully used," *Eur. Radiol.*, vol. 24, no. 3, pp. 649–656, 2014.
- [2] A. Real, "Efectos biológicos de las radiaciones ionizantes," *Fac. CC Físicas-UCM*, 2014.
- [3] SEFM-SEPR-SERAM, Protocolo Español de Control de Calidad en Radiodiagnóstico. 2011.
- [4] Sociedad Española de Protección Radiológica, "Las Recomendaciones 2007 de la Comisión Internacional de Protección Radiológica."
- [5] G. Concha, "Conceptos básicos sobre imágenes por Resonancia Magnética," 2006
- [6] P. García, "Principios Básicos. Manual de tomografía axial computarizada multicorte," 2008.
- [7] "General study module attributes," *DICOMLookup*, 2016.
- [8] E. v. P. Bongartz, G., Golding, S.J., Jurik, A.G., Leonardi, M., van Meerten, "EUROPEAN GUIDELINES ON QUALITY CRITERIA FOR COMPUTED TOMOGRAPHY."
- [9] J. A. Rph, A. Koch, L. Buendgens, C. Trautwein, and A. Eisert, "Clinical decision support systems differ in their ability to identify clinically relevant drug interactions of immunosuppressants in kidney transplant patients," no. December 2010, pp. 1–10, 2017.
- [10] R. S. Juan, C., Martí, L., Requena and J. S. Rodriguez, "Método automatizado para la cuantificación y el control de calidad en Tomografía Computarizada."
- [11] I. E. Commission, "Evaluation and routine testing in medical imaging departments," 1994.
- [12] J. L. Armony, D. Trejo-martínez, and D. Hernández, "Resonancia Magnética Funcional (RMf): Principios y aplicaciones en Neuropsicología y Neurociencias Cognitivas," vol. 4, no. 2, pp. 36–50, 2012.
- [13] A. Alberich, "Control de calidad en RM," in Curso de Fundamentos de Física Médica. Resonancia Magnética, 2017.
- [14] Elnour, H., Ahmed Hassan, H., Mustafa, A. & Yasen, A. (2017). Assessment of Image Quality Parameters for Computed Tomography in Sudan. *Open Journal of Radiology*, 7(1), 75–84. <http://doi.org/10.4236/ojrad.2017.71009>

XAPLAB: software de diseño de protocolos de adquisición con equipos de rayos X

A. Martínez Martínez¹, A. García Santos², R. Polo Cezón², M. Desco Menéndez^{1, 2, 3, 4},
M. Abella García^{2, 4}

¹ Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, {amartinez, mdesco, mabella}@hggm.es

² Depto. Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, {agsantos, rpolo}@hggm.es

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

⁴ Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC), Madrid

Resumen

La introducción de detectores digitales de rayos X en equipos de radiología, junto con el desarrollo de algoritmos avanzados de reconstrucción permite proporcionar a estos equipos capacidades para obtener información 3D. Éstas se basan en la obtención de un número limitado de proyecciones con sistemas de geometría no estándar.

En este trabajo presentamos XAPLAB, un software para facilitar el diseño y la implementación de nuevos protocolos de adquisición. La herramienta permite ajustar la posición de adquisición de las distintas proyecciones dentro de las posibilidades de movimiento un sistema específico, simular y pre-visualizar las proyecciones y obtener información relevante como el campo de visión (FOV) cubierto o la dosis de radiación total estimada. Así como exportar la secuencia generada para ser reproducida en el sistema real. Las partes con mayor coste computacional se implementan en kernels acelerados con GPU. Para demostrar la utilidad del software se ha realizado el diseño de un protocolo de tomosíntesis lineal en el equipo de radiología digital NOVA FA de SEDECAL y se han comparado las proyecciones simuladas y reales de un maniquí geométrico.

1. Introducción

En las últimas décadas se ha producido una rápida transición hacia la radiología digital, gracias a la introducción de detectores digitales. Este hecho, junto con la aparición de sistemas de posicionamiento más flexibles, ha propiciado el desarrollo de nuevos métodos para obtener información 3D utilizando sistemas de radiología convencional. Esto permite llevar la tomografía a situaciones en las que no es posible realizar un TAC como, por ejemplo, durante una cirugía o en la UVI.

Estos nuevos protocolos de adquisición se centran en la obtención de información 3D a partir de un número limitado de proyecciones con geometrías no estándar. En este contexto, la simulación mediante software constituye una herramienta muy valiosa a la hora de explorar las posibilidades de diferentes configuraciones de adquisición antes de implementarlas en sistemas reales. En los últimos años se han desarrollado numerosas herramientas software [1-5] que permiten simular el proceso de generación de las imágenes de rayos X. En general, están orientadas a la simulación de imágenes 2D o estudios tomográficos, imponiendo ciertas restricciones en cuanto al posicionamiento de la fuente y el detector. Esto limita su utilidad a la hora de simular nuevos protocolos que

implementen configuraciones no estándar; además, no proporcionan una forma directa de adaptar los protocolos diseñados a las especificaciones de un sistema de adquisición real.

En este trabajo presentamos XAPLAB (X-ray Acquisition Protocol LABoratory), un software diseñado para permitir la creación de protocolos de adquisición con geometrías flexibles adaptadas a sistemas reales además de simular las imágenes mediante *kernels* de alto rendimiento y proporcionar información adicional como la dosis estimada o el campo total irradiado. El software facilita además la implementación de los protocolos diseñados en un sistema real.

2. Materiales y métodos

XAPLAB ha sido desarrollado en MATLAB siguiendo un enfoque modular y basado en la programación orientada a objetos, con el fin de permitir flexibilidad para añadir nuevas funcionalidades.

Los elementos principales del sistema de rayos X están representados mediante sus respectivos objetos:

- *source*: representa la fuente de rayos X, definida por su posición.
- *detector*: describe el detector, definido por su posición, tamaño de matriz y de píxel, y orientación (ángulos *tilt*, *skew* y *roll*).
- *patient*: objeto del que se desea obtener la imagen, definido por su posición y tamaño de matriz y vóxel.
- *position*: asociación de un objeto *source* con un objeto *detector*.
- *geometry*: agrupa todos los elementos anteriores, definiendo una secuencia de objetos *position*.

Para asegurar que los protocolos diseñados puedan ser adquiridos en un sistema real se introduce el concepto de *definiciones de sistema* que describen los rangos posibles de posicionamiento de los diferentes elementos.

XAPLAB se maneja a través de su interfaz gráfica de usuario, que se muestra en la Figura 1.

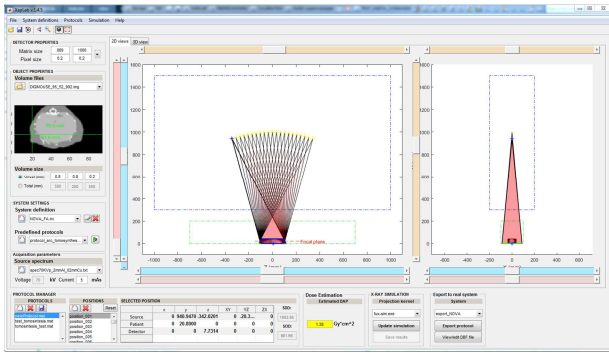


Figura 1. Interfaz de usuario

El flujo de trabajo está representado de forma resumida en la Figura 2. La interfaz de usuario permite seleccionar el volumen que representa al paciente definiendo su tamaño y orientación, y añadir un número arbitrario de posiciones de fuente y detector (*positions*). En la misma interfaz se realiza la configuración de los diferentes elementos del sistema de adquisición, tales como los rangos de posicionamiento de fuente y detector, así como el tamaño de matriz y de píxel del detector, que pueden ajustarse individualmente o seleccionarse de entre una lista de configuraciones pre-definidas y editables por el usuario.

La geometría de adquisición se representa en tiempo real en las vistas de los planos XY y XZ, así como en una vista 3D que se encuentra en la segunda pestaña. Las posiciones de fuente y detector pueden ser modificadas de forma interactiva mediante los elementos gráficos que se muestran en estas vistas, o modificando sus coordenadas individualmente mediante una tabla.

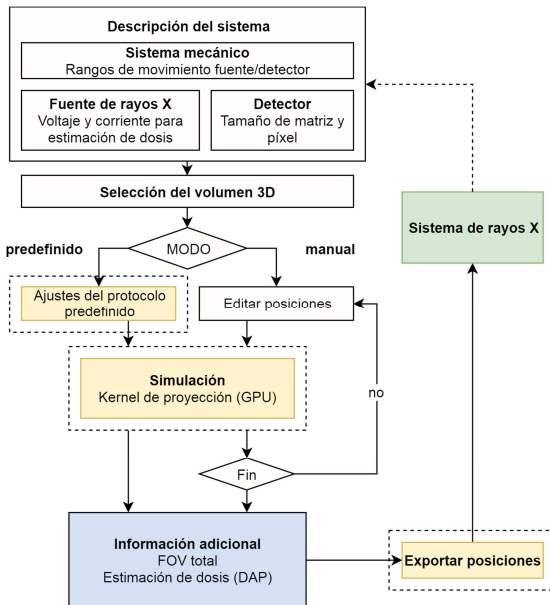


Figura 2. Flujo de trabajo de XAPLAB

La configuración del objeto *geometry*, que representa el protocolo de adquisición diseñado, es procesada por diferentes módulos implementados por XAPLAB para proporcionar diferentes funcionalidades. A continuación se describen brevemente los diferentes tipos de módulos soportados y su funcionamiento.

2.1. Simulación

El módulo de simulación permite obtener una previsualización del protocolo diseñado. Para ello ejecuta llamadas a FUX-sim [6], un paquete optimizado para GPU (utilizando CUDA y OpenCL) que genera las proyecciones a partir de una representación tridimensional del objeto a adquirir con la geometría diseñada. FUX-sim utiliza el sistema de coordenadas que se muestra en la Figura 3 para representar la geometría de adquisición. Se define en primer lugar la posición del *detector virtual* mediante las distancias fuente-detector y objeto-detector, así como el ángulo de proyección en el plano XY; siendo el detector ortogonal a la línea fuente-centro del detector. Para expresar todas las posibles posiciones y orientaciones del detector se define el *detector real* especificando los desplazamientos horizontal y vertical respecto al *detector virtual*, así como los ángulos de rotación (*skew*) e inclinación (*tilt* y *roll*) respecto a los 3 ejes.

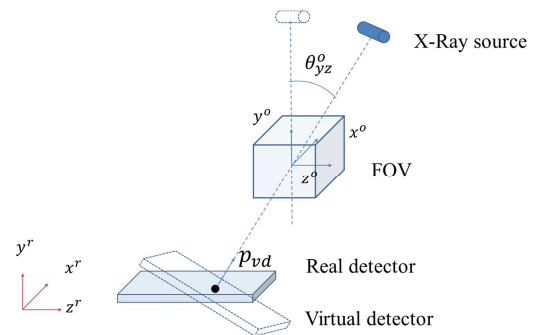


Figura 3. Sistema de coordenadas en FUX-sim

El módulo de simulación traduce la geometría del protocolo diseñado a los parámetros de FUX-sim, y le proporciona la ruta al archivo que representa el volumen. Las imágenes resultantes se muestran en una ventana externa.

2.2. Protocolos predefinidos

Los protocolos predefinidos son módulos diseñados para facilitar el diseño y evaluación de protocolos específicos variando sus parámetros. A partir de un objeto *geometry* que representa las condiciones iniciales, y de parámetros adicionales especificados por el usuario, se calculan y generan automáticamente las posiciones de adquisición. En la Figura 4 se muestra un ejemplo de protocolo predefinido de tomosíntesis lineal en el que se especifican el número de posiciones y la distancia del plano focal al centro del objeto.

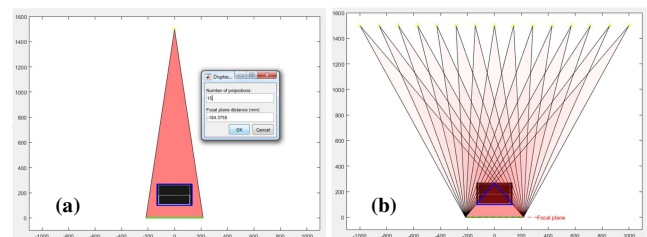


Figura 4. (a) Configuración de un protocolo predefinido de tomosíntesis lineal con selección del nº de posiciones y distancia del plano focal; (b) posiciones generadas

Estos módulos también permiten devolver información específica sobre un protocolo como el grosor de rodaja y mostrarlo en la interfaz principal (Figura 4).

2.3. Estimación de dosis

Encontrar un equilibrio entre la calidad de la imagen y la dosis de radiación al paciente es importante a la hora de diseñar un protocolo de adquisición. XAPLAB realiza una estimación de la dosis total recibida mediante el cálculo del *producto dosis-área* [7] (DAP), que se obtiene mediante la ecuación 1.

$$DAP(mGycm^2) = n_0 \cdot C \cdot \left(\frac{KV}{80}\right)^\alpha \cdot \left(\frac{100}{d}\right)^2 \cdot T \quad (1)$$

Donde C es el producto de la corriente por el tiempo de exposición (mAs), d la distancia focal (cm), T el tamaño del campo iluminado (cm²), n_0 el valor de rendimiento de referencia y α el factor que caracteriza la dependencia del valor de haz con el voltaje. El valor de n_0 se calcula a 80kVp y una distancia fuente-detector de 100cm de acuerdo con la ecuación 2.

$$n_0 = \frac{D_{80kV,100cm}(mGy)}{C_0(mAs)} \quad (2)$$

2.4. Exportación de protocolos

XAPLAB permite añadir módulos para exportar los protocolos diseñados para su adquisición en el sistema de radiología. Estos módulos tienen como entrada el objeto *geometry* generado, y se encargan de traducir la posición de los elementos al sistema de coordenadas empleado por el sistema real.

3. Evaluación

Se ha realizado una evaluación del software consistente en el diseño de un protocolo de tomosíntesis lineal, en el cual la fuente y el detector se desplazan longitudinalmente y en sentidos opuestos.

El protocolo se diseñó para el sistema de radiología digital NOVA FA de SEDECAL, que dispone de una suspensión de techo automática, mesa elevable y *bucky* mural con ángulo ajustable. El detector es de tipo *flat panel* Perkin Elmer XRpad 4336 con un tamaño de matriz de 3556x4320 píxeles y tamaño de píxel de 100 μ m.

Siguiendo el flujo de trabajo mostrado en la Figura 2, se creó una definición de sistema representando los rangos de movimiento de fuente y detector en dicho sistema, y se implementó un módulo para exportar el protocolo diseñado con el formato y sistema de coordenadas utilizado por éste. Se configuró el objeto *geometry* de partida con un par fuente-detector con una distancia fuente-detector de 150 cm y se utilizó uno de los módulos de tomosíntesis lineal implementados en XAPLAB, situando el plano focal a la altura del detector; el protocolo generado es el que se muestra en la Figura 4.b. Finalmente se utilizó el módulo FUX-sim para simular el protocolo, obteniendo las imágenes P_S .

Para facilitar la posterior evaluación se diseñó y construyó un maniquí geométrico consistente en un prisma hueco de metacrilato con marcadores radio-opacos incrustados en sus esquinas. Para poder simular el

protocolo se adquirió un TAC del maniquí con un Toshiba Aquilion/LB (512x512x1645 vóxeles, tamaño de vóxel 0.931x0.931x0.5 mm). En la Figura 5 se muestra el maniquí geométrico situado en el sistema de rayos así como un corte axial del TAC adquirido.

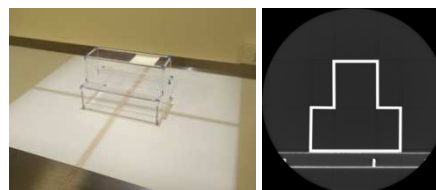


Figura 5. Maniquí geométrico en la posición de adquisición (izquierda) y corte axial del TAC (derecha).

El protocolo diseñado se exportó utilizando el módulo implementado y se adquirieron las imágenes P_R . En la Figura 6 se muestran las imágenes resultado de la simulación con FUX-sim (P_S), así como las adquiridas en el equipo de radiología (P_R); las imágenes no están post-procesadas al no ser necesario para localizar los marcadores.

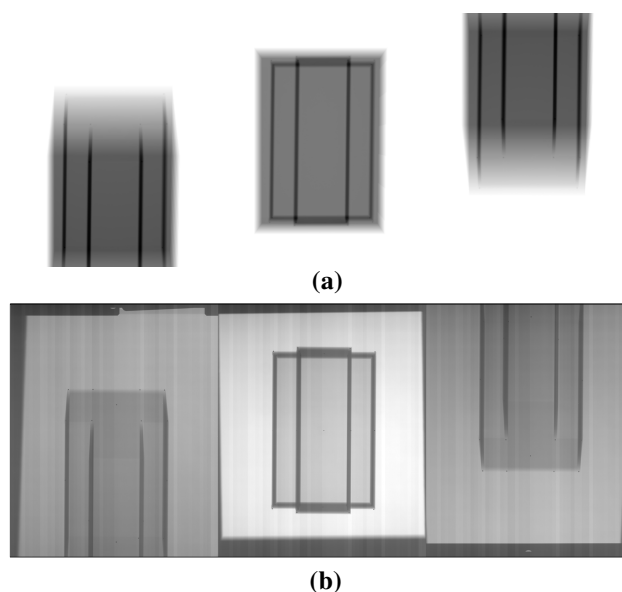


Figura 6. (a) Imágenes simuladas para las posiciones extremas y central. (b) Imágenes adquiridas

Con el fin de evaluar la correspondencia geométrica entre la geometría generada en XAPLAB con la reproducida en el sistema real, se midieron las distancias de las posiciones de los marcadores en la imagen real respecto a la simulada, para cada proyección. Para ello se localizaron de forma semi-automática los centros de los marcadores en las proyecciones, emparejando los marcadores de las imágenes simuladas con los correspondientes en las imágenes adquiridas.

Para ajustar la posición virtual del maniquí a la posición de adquisición, se registraron los marcadores en la proyección central simulada a la proyección real, estimando la transformación afín tal que:

$$M_R \approx T \times M_S \quad (3)$$

Donde M_S representa las coordenadas de los marcadores en la imagen simulada y M_R en la imagen real. A continuación se aplicó esta matriz de transformación 2D a los planos ZX de la imagen TAC del maniquí para colocar el objeto en una posición similar a la de la adquisición real, y se repitió la simulación utilizando como entrada este volumen modificado, obteniendo las proyecciones P_S' .

Se localizaron de nuevo las posiciones de los marcadores en las imágenes P_S' y P_R (Figura 7) y se calcularon las distancias euclídeas entre cada par de puntos.

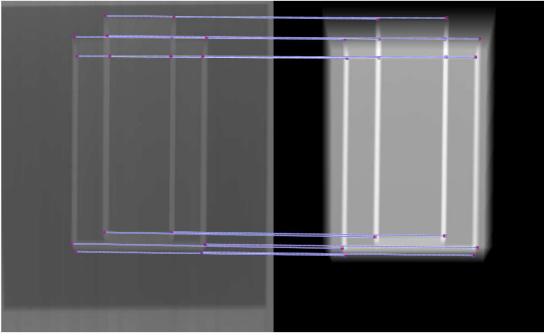


Figura 7. Localización de los pares de marcadores en la imagen adquirida P_R (izquierda) y simulada P_S' (derecha)

En la gráfica de la Figura 8 se representa la media de las distancias entre marcadores para cada posición del protocolo de tomosíntesis, que se mantiene por debajo de 12 mm para las posiciones extremas (con mayor distancia fuente-detector)

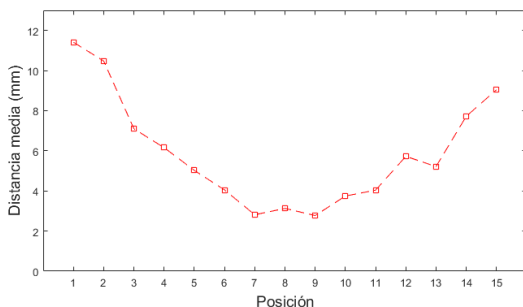


Figura 8. Distancia media entre marcadores para cada proyección.

4. Discusión y trabajo futuro

Se ha presentado una herramienta software que permite diseñar protocolos de adquisición de rayos X con geometrías flexibles y evaluar su viabilidad por medio de simulaciones por software antes de su implementación en un sistema real.

Su interfaz de usuario permite definir secuencias con posiciones flexibles de fuente y detector, obtener las imágenes simuladas mediante software y exportar los protocolos generados para su adquisición en sistemas reales.

Se ha realizado una evaluación del software simulando y adquiriendo un protocolo de tomosíntesis aplicado a un maniquí geométrico con marcadores radio-opacos y

comparando las posiciones en proyección de los marcadores, entre las imágenes simuladas y las reales. Los resultados muestran una gran concordancia geométrica entre las imágenes simuladas y las imágenes adquiridas en el sistema real. El error medio en la posición de los marcadores en proyección es inferior a 12 mm para las posiciones más extremas del protocolo e inferior a 4 mm para las centrales. Este error puede deberse en gran medida a las tolerancias propias del sistema de posicionamiento, así como a las diferencias entre el posicionamiento del maniquí en el TAC y en el sistema NOVA FA. En cualquier caso se trata de un error aceptable dada la finalidad del software.

Como trabajo futuro se plantea la expansión de las funcionalidades de XAPLAB con nuevos métodos de simulación, como por ejemplo la adición de simulación de radiación dispersa o espectro policromático. La implementación de XAPLAB, basada en el uso de módulos, facilita la inclusión estas nuevas funcionalidades así como la definición de nuevos protocolos o exportación a otros sistemas de radiología.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad (proyecto DPI-2016-79075-R).

Referencias

- [1] G. Landry, F. deBlois, and F. Verhaegen, "ImaSim, a software tool for basic education of medical x-ray imaging in radiotherapy and radiology," *Frontiers in Physics*, vol. 1, 2013 2013.
- [2] V. Fanti, R. Marzeddu, G. Massazza, and P. Randaccio, "A simulation tool to support teaching and learning the operation of X-ray imaging systems," *Medical Engineering & Physics*, vol. 27, pp. 555-559, 9/2005 2005.
- [3] E. Gallio, O. Rampado, E. Gianaria, S. D. Bianchi, and R. Ropolo, "A GPU Simulation Tool for Training and Optimisation in 2D Digital X-Ray Imaging," *PLOS ONE*, vol. 10, p. e0141497, 2015-11-6 2015.
- [4] P. Duvauchelle, N. Freud, V. Kaftandjian, and D. Babot, "A computer code to simulate X-ray imaging techniques," *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, vol. 170, pp. 245-258, 2000 2000.
- [5] A. Maier, H. G. Hofmann, M. Berger, P. Fischer, C. Schwemmer, H. Wu, *et al.*, "CONRAD—A software framework for cone-beam imaging in radiology," *Medical Physics*, vol. 40, p. 111914, 11/2013 2013.
- [6] M. Abella, E. Serrano, J. Garcia-Blas, I. Garcia, C. De Molina, J. Carretero, *et al.*, "FUX-Sim: Implementation of a fast universal simulation/reconstruction framework for X-ray systems," *PLOS ONE*, vol. 12, 2017.
- [7] J. M. Boone, D. D. Cody, J. R. Fisher, G. D. Frey, H. Glasser, J. E. Gray, *et al.*, "AAPM report 74: Quality control in diagnostic radiology," 2002 2002.

ADC-Weighted Joint Registration-Estimation for Cardiac Diffusion Magnetic Resonance Imaging

S. Sanz-Estébanez¹, J. Royuela-del-Val¹, J. Broncano-Cabrero², S. Aja-Fernández¹, C. Alberola-López¹

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

² Cardiothoracic Imaging Section, Hospital de la Cruz Roja, RESSALTA, Health Time Group, Córdoba.

Abstract

The purpose of this work is to develop a method for the groupwise registration of diffusion weighted datasets of the heart which automatically provide smooth Apparent Diffusion Coefficient (ADC) estimations, by making use of a novel multimodal scheme. To this end, we have introduced a joint methodology that simultaneously performs both the alignment of the images and the ADC estimation. In order to promote diffeomorphic transformations and to avoid undesirable noise amplification, we have included appropriate smoothness constraints for both problems under the same formulation. The implemented multimodal registration metric incorporates the ADC estimation residuals, which are inversely weighted with the b-values to balance the influence of the signal level for each diffusion weighted image. Results show that the joint formulation provides more robust and precise ADC estimations and a significant improvement in the overlap of the contour of manual delineations along the different b-values. The proposed algorithm is able to effectively deal with the presence of both physiological motion and inherent contrast variability for the different b-value images, increasing accuracy and robustness of the estimation of diffusion parameters for cardiac imaging.

1 Introduction

Diffusion weighted imaging (DWI) is an imaging technique sensitive to water molecule displacement allowing to measure micro-structure density and membrane tortuosity within the tissue. DWI is increasingly employed in clinical practice as it is a relatively quick non-contrast technique that provides quantitative markers, such as the well-known apparent diffusion coefficient (ADC), showing usefulness in early diagnosis of cardiovascular accidents due to its ability to detect early signs of ischemia [1]. ADC has been shown to be a positive indicator of tumor response [2] due to its ability to measure displacement of water molecules, giving evidence about cellular organization and permeability in the tissue [3].

Nonetheless, in most cases, a previous registration step is performed in order to obtain proper ADC estimations, since images are acquired in different apneas. However, this is not an easy task since a signal intensity dropout is observed when increasing the intensity of the diffusion gradient (hereinafter referred to as *b*-value), leading to images

with very different signal to noise ratios (SNR). This phenomenon, associated to the very nature of the DWI acquisition process, is illustrated in Fig. 1.

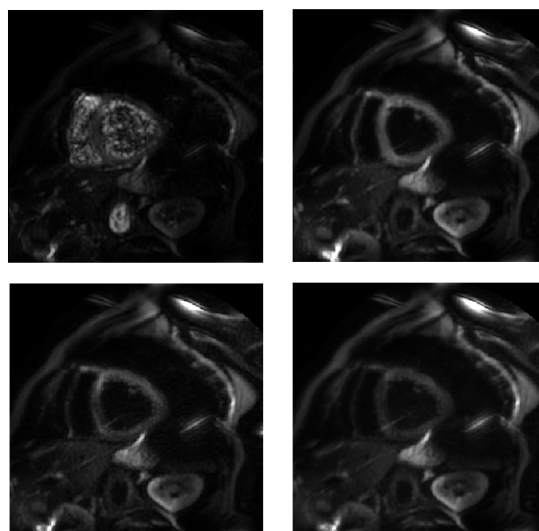


Figure 1. Axial slices of DWI acquisition in a healthy patient for b-values of 0, 50, 150 and 300 s/mm^2 (from upper left to bottom right).

Physiological motion is the most dominant confounding factor, specially in cardiac imaging. Breath-hold acquisitions are a popular way of avoiding motion artifacts. However, when different images are acquired at different breath-holds and, later, used for ADC estimation, considerable artifacts can arise [4] that stem from the fact that two inspiration levels are never identical. Therefore, the aforementioned registration step is mandatory in order to relate anatomical relevant information from multiparametric acquisitions.

Image registration, to put it short, is concerned with the search of an optimal transformation for the alignment of at least two images. It has many applications in imaging, such as fusion of image information [5], material point tracking [6] or atlas construction [7]. As for the groupwise registration problem, it may be posed as finding a spatial transformation so that every point in each image is matched to a point in a reference image that is built out of the whole image set to be registered.

The cost function (metric) associated to the registration problem is usually designed to measure the image similarity/dissimilarity within the dataset. Examples of common voxel-based metrics are cross correlation [8], mutual information [9] or sum of squared differences, which have proven useful for different image alignment problems.

Different methodologies for multiparametric registration towards robust ADC estimation have been designed for distortion correction [10] and motion compensation [11], but from a pairwise standpoint. Groupwise approaches have also been addressed in [12]. However, none of them consider explicitly the diffusion process. For these reasons, we hypothesize that a registration metric that takes into account the parameters to be estimated, as proposed in [13, 14], will help diminish the impact of motion artifacts as well as robustify the subsequent ADC estimation.

Therefore, we propose a joint formulation that solves simultaneously the estimation and the registration problems. We aim at finding the optimal transformation over the cardiac DWI dataset which leads to optimal ADC estimates. We have incorporated within the registration metric some weighting parameters that balance the influence of the different images on the registration process according to the DW signal content.

2 Materials and Methods

2.1 Materials

For the validation of the proposed approach, a synthetic experiment has been carried out using a simulation environment based on the 4D digital extended cardio-torso (XCAT) phantom [15]. The phantom consists of a whole body model that contains high level detailed anatomical labels, which feed a high resolution image synthesis procedure. The 4D XCAT phantom incorporates state of the art respiratory and cardiac mechanics, which provide sufficient flexibility to simulate cardio-torso motion from user-defined parameters. Therefore, the phantom provides us not only with the images themselves, but also with a ground-truth displacement field. Diffusion processes are simulated as the molecular displacement, often referred to as Brownian motion. For restricted diffusion, the resulting motion can be modeled as a random walk process [16], where motion presents a non-Gaussian distribution with lower apparent diffusion. Common approaches assume a monoexponential decay in the DW signal [17].

Additionally, we have performed MRI acquisitions over a healthy volunteer. An axial SENSitivity Encoding (SENSE) DWI sequence has been acquired on a Philips Achieva 3T scanner on free breathing conditions. Cardiac gating has also been activated during the acquisition. The following subset of b -values ($N_b=4$) has been acquired: $b \in \{0, 50, 150, 300\} s/mm^2$. Acquisition and resolution details for these experiments are shown in Table 1.

2.2 Methods

The proposed method has been applied to the groupwise registration of two-dimensional cardiac DWI acquisitions

Parameters	XCAT	DW-MRI
Δ_p	1	1.1719
Δ_l	1	8
N_p	192	256
N_s	70	11
T_R	8000	1052.6
T_E	93	51.74
N_g	1	3

Table 1. Details on the image sequences used in the paper. Δ_p : Spatial Resolution (mm). Δ_l : Slice Thickness (mm). N_p : Number of pixels along each direction. N_s : Number of slices. T_R : Repetition Time (ms). T_E : Echo Time (ms). N_g : Number of diffusion gradients.

and, specifically, for robust ADC estimation. Bearing in mind this application, local transformation τ has been represented as a combination of B-spline FFDs [18].

Therefore, we intend to find optimal alignment of DWI dataset \mathbf{S} by solving the following joint registration-estimation problem:

$$[\widehat{\text{ADC}}, \widehat{\tau}] = \underset{\text{ADC}, \tau}{\text{argmin}} \int_{\mathcal{X}} H(\mathbf{S}, \text{ADC}, \tau) + \beta \|\text{ADC}\|_{TV} + \lambda \text{Reg}(\tau) dx, \quad (1)$$

where $\text{Reg}(\tau(\mathbf{x}))$ is a penalty term which favors the transformation τ to be invertible [19] and $\|\text{ADC}(\mathbf{x})\|_{TV}$ represents the spatial total variation regularization term as defined in [20]. The total variation term has been introduced so that it contributes to noise removal in the final estimated ADC map dealing with the inhomogeneities derived from the inherent low SNR of each b -value image [21]. The influence of these two regularization terms is balanced by trade-off parameters λ and β , respectively, which have been set empirically.

As for the metric H , our proposal aims at directly minimizing the residuals in the ADC estimation, so it is defined as:

$$H(\mathbf{S}, \text{ADC}, \tau) = \sum_{j=1}^{N_b} W_j^i (S_j(\tau(\mathbf{x})) - \widehat{S}_j(\text{ADC}^i(\mathbf{x})))^2, \quad (2)$$

where S_j represents the acquired image and $\widehat{S}_j = S_0 \exp(-b_j \text{ADC}^i)$ for the current (i -th iteration) ADC estimate. S_0 is the image with no diffusion gradient applied.

The proposed metric extends the one presented in [13] by adding proper weighting parameters related to the underlying noise distribution of the magnitude images as a trade-off between the different b -values. Those weights, initially unitary, are redefined along iterations with the predicted DW signals (see [22]) as follows:

$$W_j^i = \exp(-2b_j \mu(\widehat{\text{ADC}}^i)), \quad (3)$$

where $\mu(\text{ADC})$ represents the median of the current ADC distribution in the myocardium.

We will solve Eq. (1) by sequentially solving the estimation and registration problems separately, via *ceteris-*

paribus analysis. Hence, we iteratively alternate between estimating model parameters and the optimal transformation until convergence is reached both in transformation τ and metric H . First, the diffusion parameters are estimated by means of the NESTA algorithm [20] as described:

$$\widehat{\text{ADC}} = \underset{\text{ADC}}{\text{argmin}} \int_{\chi} [H(\mathbf{S}, \text{ADC}, \tau) + \beta \|\text{ADC}(\mathbf{x})\|_{TV}] dx. \quad (4)$$

As stated before, the measured images are not spatially aligned and therefore the ADC map cannot be directly computed. Therefore, we have introduced a groupwise registration framework using the registration metric defined in Eq. (2). To constraint the transformation τ to be locally invertible, we have resorted to a simple quadratic regularization scheme described in [19]. A gradient-descent optimization scheme has been employed [23] to solve the registration problem posed in Eq. (5) as:

$$\hat{\tau} = \underset{\tau}{\text{argmin}} \int_{\chi} H(\mathbf{S}, \text{ADC}, \tau) + \frac{\lambda}{2} \sum_{l=1}^L \sum_{j=1}^{N_b} \sum_{m,n} [(\tau_{m+1,n,j}^l - \tau_{m,n,j}^l)^2 + (\tau_{m,n+1,j}^l - \tau_{m,n,j}^l)^2] d\mathbf{x}, \quad (5)$$

where $\tau_{m,n,j}^l$ represents each of the (displacements) components of the transformation ($L = 2$ for the 2D case).

3 Results

In this section, we test robustness and accuracy of our joint formulation in comparison with other methodologies in the literature. Demons [24] pairwise registration algorithm has been implemented using a mutual information based metric. As for groupwise approaches, apart from our Joint scheme, we have tried Entropy of the Distribution of Intensities [25], Normalized Cross-Correlation [8] and Sum of Squared Differences metrics.

With the data provided by the XCAT phantom and for each method mentioned above we have measured the overlap degree —using the Dice coefficient [26]— between the myocardial contours for each b -value and cardiac phase with those at the diastolic instant of the S_0 image.

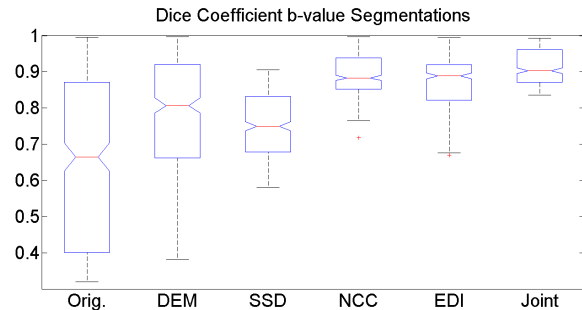


Figure 2. Boxplot diagrams of Dice Coefficient distributions between segmentations in different b -values.

In Figure 2 we show the boxplot diagrams of the Dice coefficient obtained from the aforementioned registration methods and our joint formulation proposal. The joint formulation shows a considerable improvement in terms of

overlapping compared with the other two methods. Mann-Whitney U-tests have been performed on the Dice coefficient distributions, finding significant improvement when introducing any registration step when compared to the non-registered sequence ($p < 10^{-6}$) for all methodologies. The joint formulation presents also significant improvement both over the pairwise (DEM) and monomodal (SSD) approaches ($p < 10^{-6}$ for both). These results conclusively support the hypothesis that the joint formulation is a better option than sole groupwise multimodal registration schemes ($p < 10^{-3}$ for both EDI and NCC metrics).

In addition, for the real data we have tested the performance of the aforementioned procedures for the estimation of diffusion parameters. In this experiment, we have measured the mean, variance and coefficient of variation ($CV = \text{std}/\text{mean}$) of ADC estimates obtained inside the myocardium for each method (see Table 2).

Method	Mean(mm^2/s)	Variance	CV%
Orig.	$1.4863 \cdot 10^{-3}$	$2.5517 \cdot 10^{-7}$	33.99
DEM	$1.4264 \cdot 10^{-3}$	$2.7957 \cdot 10^{-7}$	37.06
SSD	$1.2088 \cdot 10^{-3}$	$4.2366 \cdot 10^{-7}$	53.84
NCC	$1.5348 \cdot 10^{-3}$	$2.5435 \cdot 10^{-7}$	32.86
EDI	$1.5490 \cdot 10^{-3}$	$2.5530 \cdot 10^{-7}$	32.62
Joint	$1.7091 \cdot 10^{-3}$	$1.7380 \cdot 10^{-7}$	24.39

Table 2. Mean, variance and CV of ADC estimates over the myocardium of a healthy patient.

As indicated in the table, the CV of the estimated ADC parameters obtained with the joint formulation is significantly lower compared to other methodologies, specially to the monomodal approach. Besides, robustness of ADC estimates was increased and bias in estimation seems greatly diminished, leading to more accurate measures.

Finally, visual inspection of a registered DWI sequence reveals that our approach is able to preserve structure while reducing artifact impact, as it can be seen in Fig. 3. Therefore, boundaries will be more clearly identified (as well as tissue heterogeneity or anatomical structure), leading to reconstructed ADC maps with higher quality.

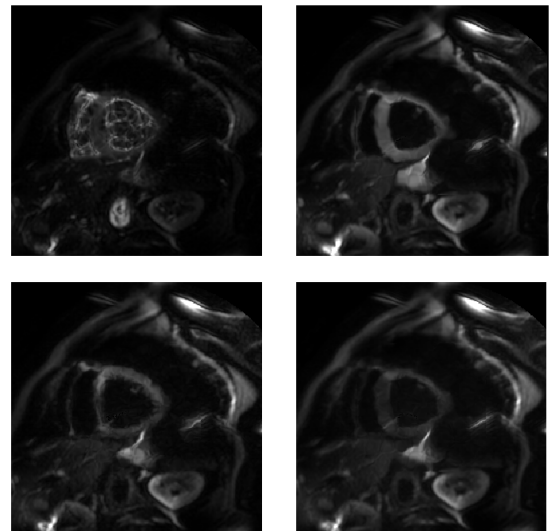


Figure 3. Axial slices of registered DWI sequence for b -values of 0, 50, 150 and 300 s/mm^2 (from upper left to bottom right).

4 Conclusions and Future Work

We have presented an image processing methodology for the simultaneous ADC estimation and non-rigid registration of cardiac DWI with a novel multimodal metric that weights each b -value by the residuals derived from the estimation. This methodology, under the groupwise paradigm, has proven to be reliable for misalignment correction and robust in the estimation of diffusion parameters, being able to provide high-quality denoised ADC maps of the heart.

Results have shown that a joint formulation approach is effective in correcting the characteristic boundary smearing of cardiac DW datasets, increasing SNR on the images while preserving myocardial anatomical structure.

5 Acknowledgments

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

References

- [1] JP. Laissy, JM. Serfaty, D. Messika-Zeitoun, A. Ribet, S. Chillon, PG. Steg, and I. Klein. Cardiac Diffusion MRI of Acute and Chronic Myocardial Infarction: Preliminary Results. *J Radiol*, 90:481–4, 2009.
- [2] T. Kim, T. Murakami, S. Takahashi, M. Hori, K. Tsuda, and H. Nakamura. Diffusion-Weighted Single-Shot Echo-planar MR Imaging for Liver Disease. *Amer Journ Roent*, 173:393–398, 1999.
- [3] D. Le Bihan. Diffusion MRI: What Water Tells us about the Brain. *EMBO Molecul Med*, 6(5):569–573, 2014.
- [4] K. McLeish, DLG. Hill, D. Atkinson, JM. Blackall, and R. Razavi. A study of the motion and deformation of the heart due to respiration. *IEEE Trans Med Imag*, 21(9):1142–1150, 2002.
- [5] L. Cordero-Grande, S. Merino-Caviedes, X. Albà, RM. Figueras i Ventura, AF. Frangi, and C. Alberola-López. 3D Fusion of Cine and Late-Enhanced Cardiac Magnetic Resonance Images. In *9th IEEE ISBI*, pages 286–289, Barcelona, Spain, 2012.
- [6] MJ. Ledesma-Carbayo, A. Bajo, C. Santa-Marta, E. Perez-David, I. Caso, MA. Garcia-Fernandez, A. Santos, and M. Desco. Cardiac Motion Analysis from Cine MR Sequences Using Non-Rigid Registration Techniques. In *Computers in Cardiology*, pages 520–523, Valencia, Spain, 2006.
- [7] GG. Fonseca, M. Backhaus, DA. Bluemke, RD. Britten, JD. Chun, BR. Cowan, ID. Dinov, JP. Finn, PJ. Hunter, AH. Kadish, DC. Lee, JAC. Lima, P. Medrano-Gracia, K. Shivkumar, A. Suinesiaputra, and AA. Young. The Cardiac Atlas Project: An Imaging Database for Computational Modeling and Statistical Atlases of the Heart. *Bioinformatics*, 27, 2011.
- [8] BB. Avants, CL. Epstein, M. Grossman, and JC. Geel. Symmetric Diffeomorphic Image Registration with Cross-Correlation: Evaluating Automated Labeling of Elderly and Neurodegenerative Brain. *Med Image Anal*, 12:26–41, 2008.
- [9] D. Mattes, DR. Haynor, H. Vesselle, T. Lewellen, and W. Eubank. Non-Rigid Multimodality Image Registration. *Med Imag 2001: Image Proc*, 4322:1609–1620, 2001.
- [10] X. Hong, X. Vinh, I. Teh, JR. Soh, and KH. Chuang. Evaluation of EPI Distortion Correction Methods for Quantitative MRI of the Brain at High Magnetic Field. *Magn Reson Med*, 33:1098–1105, 2015.
- [11] JM. Guyader, L. Bernandin, NHM. Douglas, DHJ. Poot, WJ. Niessen, and S. Klein. Influence of Image Registration on Apparent Diffusion Coefficient Images Computed from Freebreathing Diffusion MR Images of the Abdomen. *J Magn Reson Imaging*, 42(2):315–330, 2015.
- [12] H. Veeranghavan, RKG. Do, DL. Reidy, and JO. Deasy. Simultaneous Segmentation and Iterative Registration Method for Computing ADC with Reduced Artifacts from DW-MRI. *Med Phys*, 42(5):2249–2260, 2015.
- [13] EN. Kornapoulos, EI. Zacharaki, P. Zerbib, C. Lin, A. Rahmouni, and N. Paragios. Deformable Groupwise Registration using a Physiological Model: Application to Diffusion-Weighted MRI. In *ICIP*, Arizona, United States, 2016.
- [14] S. Kurugol, M. Freiman, O. Afacan, L. Domachevsky, JM. Perez-Rossello, MJ. Callahan, and SK. Warfield. Motion Compensated Abdominal Diffusion Weighted MRI by Simultaneous Image Registration and Model Estimation (SIR-ME). *Med Imag Anal*, 17:64–6, 2017.
- [15] WP. Segars, G. Sturgeon, S. Mendonca, J. Grimes, and BMW. Tsui. 4D XCAT Phantom for Multimodality Imaging Research. *Med Phys*, 37:4902–4915, 2010.
- [16] S. Lewis, H. Dyvorne, Y. Cui, and B. Taouli. Diffusion-Weighted Imaging of the Liver: Techniques and Applications. *Magn Reson Imaging Clin N Am*, 22(3):373–395, 2014.
- [17] JB. Heidi and EJB. Timothy. *Diffusion MRI*. 1st ed. New York: Elsevier, 2009.
- [18] D. Rueckert, P. Aljabar, RA. Heckemann, JV. Hajnal, and A. Hammers. Diffeomorphic Registration using B-Splines. In *MICCAI*, volume 4191, pages 702–709, 2006.
- [19] SY. Chun and JA. Fessler. A Simple Regularizer for B-spline Nonrigid Image Registration that Encourages Local Invertibility. *IEEE J Sel Top Sign Process*, 3(1):159–169, 2009.
- [20] S. Becker, J. Bobin, and E. Candés. NESTA: A Fast and Accurate First-order Method for Sparse Recovery. *SIAM J Imaging Sci*, 4:1–39, 2011.
- [21] F. Shi, J. Cheng, L. Wang, PT. Yap, and D. Shen. Super-Resolution Reconstruction of Diffusion-Weighted Images using 4D Low-Rank and Total Variation. *Comput Diffus MRI*, 2015.
- [22] J. Veraart, J. Sijbers, S. Sunaert, A. Leemans, and B. Jeurissen. Weighted Linear Least Squares Estimation of Diffusion MRI Parameters: Strengths, Limitations, and Pitfalls. *NeuroIm*, 81:335–346, 2013.
- [23] S. Sanz-Estébanez. Esquema de compensación de movimiento mediante registrado grupal aplicado a imagen cardiaca dinámica. Master's thesis, Universidad de Valladolid, Spain, 2014.
- [24] X. Pennec, P. Cachier, and N. Ayache. Non-Local Understanding the Demon's Algorithm: 3D Non-rigid Registration by Gradient Descent Shape Descriptor: A New Similarity Metric for Deformable Multi-Modal Registration. *MICCAI 1999. Lecture Notes in Computer Science*, 1679:597–606, 1999.
- [25] EG. Learned-Miller. Data Driven Image Models through Continuous Joint Alignment. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intel*, 28:236–250, 2006.
- [26] LR. Dice. Measures of the Amount of Ecologic Association Between Species. *Ecology*, 26:297–302, 1945.

Avoiding additional hardware and recovering cardiac information from k-space

A. Godino-Moya¹, T. Cloquell², J. Royuela-del-Val¹, M. Martín-Fernández¹ and C. Alberola-López¹

¹ Image Processing Laboratory, University of Valladolid, Valladolid, Spain,
{agodino, jroyval}@ipi.tel.uva.es, {marcma, caralb}@tel.uva.es

² Polytech School of Grenoble, Grenoble Alpes University, Grenoble, France,
{thibauld.cloquell}@etu.univ-grenoble-alpes.fr

Abstract

MRI is considered the gold standard for the imaging of cardiac function and anatomy. In regular cardiac MRI, an external ECG monitor is required in order to synchronize the data acquisition with the motion of the heart. However, this additional hardware increases the examination, preparation and acquisition times. The aim of this proposal is to avoid the necessity of this additional hardware in cardiac MRI examinations by developing an automatic method to recover the cardiac cycle information directly from the MRI data both in breath-hold and free breathing situations. Some different scenarios have been considered and some methods have been proposed with good performances, obtaining errors between 1-4%.

1. Introduction

Cardiovascular diseases represent nowadays the most common cause of death worldwide [1]. Therefore, the urge to update and improve the existing solutions has been increasing in order to detect cardiovascular diseases earlier and more accurately [2].

Cardiac cine MRI is considered the gold standard for the evaluation of cardiac function and anatomy [3]. However, it is a relatively slow technique that involves long examination times and elaborated setups. Specifically, additional hardware, such as ECG and respiratory bellows, is required. The ECG is used to synchronize the acquisition of MRI data with the cardiac beating and bellows are used as respiration sensors to avoid artifacts produced by respiratory motion when the long time required for the procedure prevents breath-hold acquisitions. However, these external devices increase the examination, preparation and acquisition times [4-5]. Moreover, the ECG in high field MRI systems can be severely corrupted by induced electromagnetic signals and the magnetohydrodynamic effect [6]. One way to reduce scan time is to change the usual manner to sample the k-space. This is, indeed, a very active field of research nowadays [7-8], in which the use of Golden radial trajectories [6] has shown to enable high acceleration factors in 2D MRI (see Figure 1). When using radial trajectories, the center point of the k-space, which corresponds with the DC component of the image, is acquired at every *spoke* or acquisition line, a fact that will be exploited as described in the following sections.

The aim of this proposal is to avoid the need of additional hardware in cardiac MRI examinations and develop an

automatic method to recover the cardiac synchronization signal directly from the MRI data afterwards. The procedure has been tested via numerical simulation and with real data both in breath hold and free breathing acquisitions.

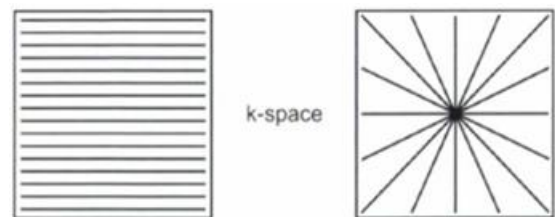


Figure 1. Cartesian (left) and radial (right) trajectories for the acquisition of k-space data. In the radial case, the center of the k-space (DC component) is acquired at every single shot.

2. Theory

2.1. Cardiac signal detection

In cardiac cine MRI a set of images along the cardiac cycle are obtained enabling the visualization of the motion of the heart. In these images, blood typically appears bright, surrounded by darker regions (mainly myocardium, lungs, and liver). Therefore, we hypothesize that cardiac contraction will translate into a decrease on the average intensity value of each image (DC component) along the cardiac cycle (Figure 2). Since the k-space data is related to the final images via the Fourier transform, the evolution of DC component of the images along time is contained in the central position of the k-space, which is more frequently sampled when radial trajectories are used. Consequently, the proposed method for the recovery of the cardiac synchronization information is based on the processing of the signal formed by the central samples of the k-space along time. In free breathing scenarios, the change of volume of the lungs will also affect the DC value of the images. Therefore, breathing dynamics will be present in the signal as well. As a preprocessing step, this signal is band-pass filtered between 0.1 Hz and 1.5 Hz, where most of the cardiac and respiratory activities are contained. A peak detection algorithm is then applied to identify cardiac cycles.

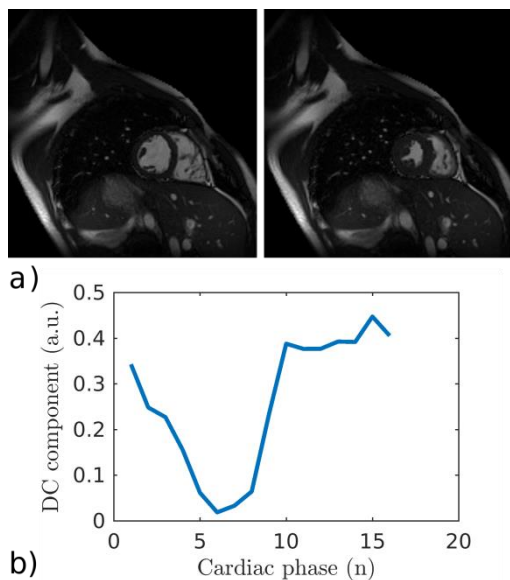


Figure 2. a) Diastolic (left) and systolic (right) cardiac phases in a cardiac cine exam. b) Evolution of the average intensity value along the cardiac cycle. Minimum corresponds to the systolic phase shown.

2.2. Coil selection

In modern MRI systems, k-space signal is acquired simultaneously with several coils or antennas (parallel imaging), shortening acquisition time. The data captured by each coil is affected by the radiation pattern or *sensitivity* of that antenna. Given the spatial distribution of the antennas, some of them will provide more useful information for the recovery of the cardiac signal than others (Figure 3).

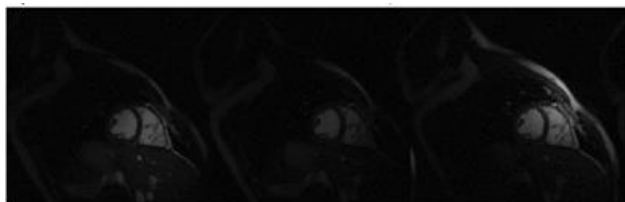


Figure 3. Coil selection. The images obtained from three different coils are represented. The image in the center is discarded because of its low brightness. The coil on the right side is more focused on the external area than the coil on the left which is more focused on the heart. Therefore, the coil on the left will be preferred.

A method to automatically select the best coil is a key component of the developed method. Two approaches are presented:

- Automatic selection based on spectral analysis: calculate the ratio between the average of the spectrum of the signal in the [0.5-1.5 Hz] and [0.1-0.5 Hz] bands, which correspond with the frequencies of the cardiac cycle signal and respiratory cycle signal, respectively. The selected coil was the one that provided a higher value of these ratios. In this approach, only the information from one coil is used for signal recovery.
- Principal component analysis (PCA) approach: We hypothesize that, by means of PCA, most of the common dynamic cardiac information that is *distributed* among the different coils can be

concentrated in the firsts principal components of the multicoil DC signal.

3. Materials and Methods

Four healthy volunteers with ages ranging 24-29 were scanned with a 32-elements cardiac coil on a 1.5T Philips scanner and a balance steady state free precession (bSSFP) sequence. The acquisitions were performed in three different scenarios:

3.1. Cartesian, breath-hold acquisition

A standard Cartesian acquisition in breath-hold was performed. Relevant acquisition parameters include TR/TE = 2.9 ms/1.44 ms, flip angle of 60°, field of view (FOV) = 320×320 mm², spatial resolution = 2×2 mm². 20 cardiac phases were reconstructed.

In this approach, a single cardiac cycle is reconstructed. In order to simulate a continuous acquisition along several cardiac cycles the DC signal was periodically extended. The signal obtained has been used as a first stage validation of the proposed approach in a simplistic scenario.

3.2. Golden-radial breath-hold acquisition

A golden-radial acquisition [6] was performed in breath-hold with similar parameters than in the Cartesian case. Total acquisition time was ~12 seconds and a total number of 4000 projections were acquired. The first 400 projections were discarded in order to guarantee that the stationary state was reached.

Contrary to Cartesian, in a radial acquisition each line passes through the center of the k-space. The three central samples along each line were averaged in order to correct possible misalignment with the center of the k-space due to gradient errors and eddy currents and taken as the DC component.

3.3. Golden-radial free-breathing acquisition

An additional golden-radial acquisition was performed with similar parameters in free-breathing to analyze the influence of the respiration in the recovery of the cardiac signal.

In all the scenarios, an ECG signal was recorded simultaneously with the data and used as a ground truth. In order to validate the proposed methods in the different scenarios the following error measure has been defined:

$$Error = \frac{RR_{ECG} - RR_{MRI}}{RR_{ECG}}$$

where RR_{ECG} are the RR intervals obtained from the ECG signal of reference and RR_{MRI} are the intervals obtained from the cardiac cycle signal obtained from the MRI data.

4. Results

Figure 4 shows the cardiac cycle signals obtained from Cartesian real data in breath-hold. Only the data from a single coil was manually selected. To select the coil, the images resulting from each coil were represented and visually inspected. The coil that provided an image that showed a better compromise between brightness and direction (that is, the coil that was more focused on the

heart region) was selected (Figure 3). In the plotted signal, cardiac dynamics are cleared appreciable, with an abrupt decrease of its value indicating ventricle contraction.

With respect to golden radial acquisitions, Figure 5 shows the cardiac signal obtained from the golden radial data only for the free-breathing case, for conciseness. Data from only one coil was automatically selected applying the automatic method described in the Theory section based on spectral analysis. The peak detection algorithm was adapted to allow RR intervals between 0.5 and 1.2 seconds, corresponding to heart rates between 50 and 120 BPM. Then the obtained RR-intervals were compared with the RR-intervals obtained from the ECG signal of reference.

In the free-breathing scenario, we adapted the band-pass filter to use to mitigate the influence of the respiratory component in the cardiac signal and a higher cutoff frequency to collect additional harmonics of the cardiac cycle signal at higher frequencies. Its original spectrum and the signal obtained after filtering are also represented in Figure 5. We have achieved an error of 2.0589% in breath-hold situation. Before adapting the filter as described, the error in the free-breathing case was as high as 30.8826%. After readjusting the filter and inverting the signal to detect the minimums of the resulting signal instead of the maximums, we obtained an error of 1.6271%.

Finally, the PCA approach was applied to the free-breathing golden-radial data. In this scenario we used all the information provided by the 32 coils from the previous data set by using a PCA approach. In a first step, we used the first PCA component to obtain the cardiac cycle signal. In order to test the hypothesis that the first principal component gathers most of the cardiac information, we applied the automatic coil selection approach based on spectral analysis to all the PCA components.

Results are summarized in Table 1, which shows the error between manual and automatic selection of a single coil and for PCA based approach. The second column shows the error obtained when the coil was selected manually by visual inspection. The number preceded by the ‘#’ symbol means the number of the selected coil. In the third column

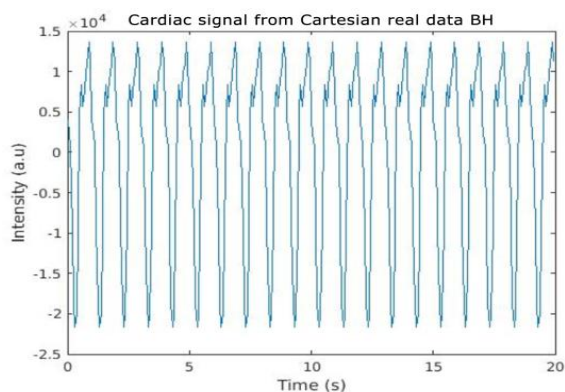


Figure 4. Cardiac cycle signals obtained from Cartesian real data in a breath-hold situation.

Subject	Visual inspection	Automatic selection	PCA	PCA after filtering
1	#5: 1.63%	#13: 2.514%	C1: 3.04% C5: 2.34%	2.65%
2	#12: 0.93%	#11: 0.984%	C1: 2.40% C4: 1.45%	1.37%
3	#14: 1.40%	#13: 3.103%	C1: 4.39% C8: 1.97%	3.20%
4	#4: 3.56%	#5: 3.731%	C1: 7.57% C2: 3.40%	3.88%

Table 1. Error comparison (in percentage) between manual and automatic selection and between single or multi-coil methods.

the results from the method described in section 2.2 are shown. In the fourth column the results obtained from the PCA approach are shown. The number preceded by a ‘C’ letter means the selected PCA component by the automatic method based on spectral analysis. The results from selecting the first PCA component (C1) are also shown for comparison. Finally, in the fifth column we present the results of the PCA approach with a previous filtering of the data and automatic selection of the PCA component.

5. Discussion

In the first scenario with Cartesian data, the cardiac cycle signal can be easily obtained by extracting the zero-frequency component along time in a breath-hold situation. The RR-intervals are constant due to the heart rate variability is not included. However, in a free-breathing situation the cardiac cycle signal was affected by the respiratory signal. A band pass filter (cutoff frequencies 1 and 2.5 Hz) was used to remove the respiratory signal. Since the results were not accurate enough, different band-pass filters with different cutoff frequencies were used until we achieved the desired accuracy. In the free breathing situation, the signal is affected by respiratory cycle but it can be removed by filtering.

For breath-hold golden-radial acquisitions, the filtering method is showing good results and allows us to recover the RR intervals with accuracy. When switching to a free-breathing scenario, and after applying the described modifications in the filtering procedure, the error between automatic selection of one coil and filtering before the PCA approach look similar. It can be presumed, that if more subjects had participated, this slight difference may be included in the standard deviation. Concerning the resulting images from coils, it is really difficult to clearly detect differences between the optimal coil and the two other coils selected by an automatic approach. However, it seems that the best choice between these proposed methods is the PCA approach after filtering the data, since the information of all coils is combined. This also makes sense because we remove some noise, which can affect negatively to the resulting PCA directions.

Another important point in this discussion is that the recovered signals are not in the same cardiac phase when

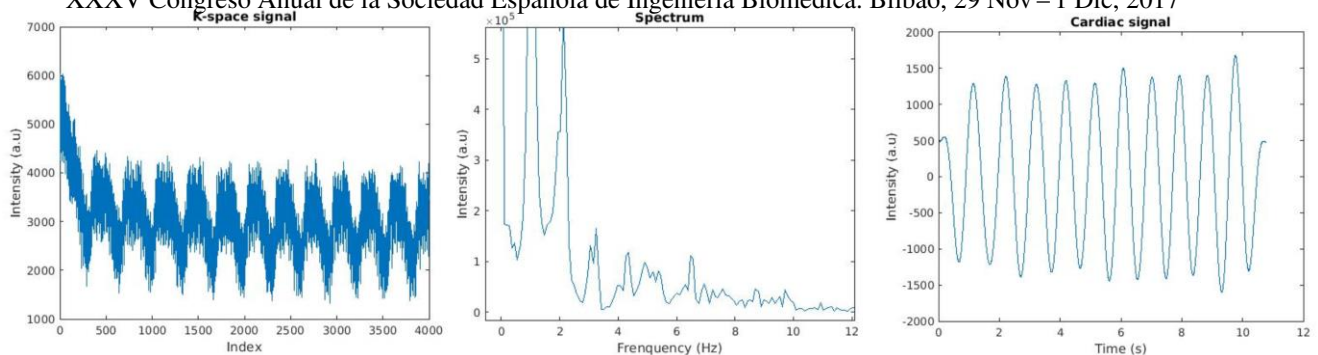


Figure 5. Cardiac cycle signals obtained from golden radial real data. On the left is represented the signal (only real part of the complex signal is considered) obtained before filtering; in the center its spectrum is represented; and on the right, the signal after filtering is shown.

the image is reconstructed, since an offset is introduced between the peaks detected in the real ECG signal and the one recovered from the k-space data. This fact is not such a big problem since the information reside in the RR interval series.

6. Conclusions

An automatic method for recovering the cardiac cycle signal from k-space data with two approaches was proposed. The automatic selection of coil reveals that the selected coil may be not the best one but one with a low error. If a comparison of the results of the automatic coil selection and the filtering plus PCA approach is made, it can be seen that the error are quite similar. Moreover, it is presumed that with a wider data set those differences may be enclosed in the standard deviation and consequently there would be a non-significant difference between these two methods. However, the best choice between these two methods seems to be the PCA approach after filtering the data, since the multi-coil information is combined and provide more accurate results than only one coil.

7. Limitations and future work

One of the major limitations of the current work is the reduced number of dataset available for validation, as mentioned in the Conclusions section. In the automatic selection method based on spectral analysis, the presence of breathing dynamics in the temporal behavior of the DC signal has been pointed out. As a future work, the possibility of recovering a respiratory navigator signal will be studied. This approach would eliminate the use of additional respiratory sensors or navigator sequences in respiratory navigated free-breathing acquisitions.

References

- [1] Townsend N., Wilson L., Bhatnagar P., Wickramasinghe K., Rayner M., Nichols M. Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016, *European Heart Journal*, Volume 37, Issue 42, 7 November 2016, Pages 3232–3245
- [2] World Health Organization. “Global status report on non-communicable diseases 2014”, 2014.
- [3] Feng L, Srichai MB, Lim RP, Harrison A, King W, Adluru G, Dibella EV, Sodickson DK, Otazo R, Kim D. Highly ac-

celerated real-time cardiac cine MRI using k-t SPARSE-SENSE. *Magn Reson Med* 2013;70:64-74.

- [4] Lamb HJ, Van Schinkel L, Kroner E, van den Boogaard PJ, Versluis MJ, de Roos A, Webb A, Siebelink HJM. 7t clinical cardiovascular mr imaging: initial experience. *J Cardiovasc Magn Reson* 2012;14:P234.
- [5] Usman M, Atkinson D, Kolbitsch C, Schaefer T, Prieto C. Manifold learning based ecg-free free-breathing cardiac cine mri. *Journal of Magnetic Resonance Imaging* 2014(DOI: 10.1002/jmri.24731)
- [6] Krug J.W., Rose G., Stucht D., Clifford G., Oster J. Limitations of VCG based gating methods in ultra high field cardiac MRI, *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance*, 2013, 15(Suppl 1):W19
- [7] Otazo R, Feng L, Chandarana H, Block T, Axel L, Sodickson D. Combination of compressed sensing and parallel imaging for highly-accelerated dynamic mri. In *Biomedical Imagin (ISBI)*, 2012 9th IEEE Int. Symposium on 2012; pp. 980-983
- [8] Otazo R, Kim D, Axel L, Sodickson DK. Combination of compressed sensing and parallel imaging for highly accelerated first-pass cardiac perfusion MRI. *Magn Reson Med* 2010;64:767-776.
- [9] S. Winkelmann, T. Schaeffter, T. Koehler, H. Eggers and O. Doessel, "An Optimal Radial Profile Order Based on the Golden Ratio for Time-Resolved MRI," in *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 26, no. 1, pp. 68-76, Jan. 2007.

An automated pipeline based on computational algorithms to extract Imaging Biomarkers and integrate them to calculate a new parameter to assess bone fracture: Quality of Trabecular Structure (QTS)

Ten-Esteve A.¹, Garcia-Castro F.², Garcia-Marcos, R.¹, Marti-Bonmati L.^{1,2}, Pérez MA³, Alberich-Bayarri A.^{1,2}

¹ Grupo de Investigación Biomédica en Imagen (GIBI2³⁰), Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, Spain

² Quantitative Imaging Biomarkers in Medicine, Quibim S.L, Valencia, Spain

³ M2BE-Unizar, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, Spain

Abstract

The characterization of the bone microarchitecture from MR or CT is significantly relevant in order to predict the risk of bone fracture. Our purpose was to evaluate the accuracy of the our bone pipeline based on computational algorithms extracting Imaging Biomarkers and integrate them in a new parameter to asses bone fracture: Quality of Trabecular Structure (QTS) and compare it to the reference standard under different imaging modalities. The reference is based on synthetic bones, consisting of 10 samples, 5 with 15% and 5 with 30% of material density that were acquired from SAWBONES® (Washington, USA) with known mass, density and pore size and were scanned using X-Ray, MDCT and MR. The voxel size (mm) in MDCT was of 0.234x0.236x0.67. The MR sequence was a T2-GRE with a voxel of 0.146x0.146x0.5 mm. The image processing steps were a bit different in X-Ray, MDCT and MR, according to a methodology developed in our group. Bone Volume to Total Volume (BV/TV) were measured in order to define the bone percentage in the volume. Trabecular Separation (Tb.Sp) was quantified by taking into account consecutive voxels corresponding to marrow cavities. MR and MDCT measurements of trabecular bone volume percentage and pore size were calibrated against the known ground truth from synthetic bones. These results add insight into the validation of bone microarchitecture imaging biomarkers.

1. Introduction

The osteoporotic disease carries a high risk of bone fracture, which, besides health issues, represents millions in hospitalization and treatment. Therefore, being able to predict the risk of bone fracture is a common goal in modern medicine [1].

FRAX® (Fracture Risk Assessment tool), TBS (Trabecular Bone Score) and BMD (Bone Mineral Density) are the most common methods used currently to predict the risk of bone fracture. However, each of these methods present shortcomings that hinder their accuracy. In this scenario, new methods based on the characterization of bone micro architecture are needed in order to properly understand the bone quality.

The main goal of this work is to implement an automated pipeline based on computational algorithms to evaluate the accuracy of the characterization of bone micro architecture through imaging modalities like X-ray, Magnetic Resonance (MR) and Computed Tomography (CT) by their comparison against a reference based on synthetic bones with known properties

2. Material and Methods

2.1. Samples

Synthetic bones from Sawbone® (SAWBONES EUROPE AB, Malmo, Sweden) with known density, mass and cell size were used as acquisition samples for this research. The samples are built with an open cell rigid foam that resembles the structure of human trabecular bone, with a cell size of 1.5 to 2.5 mm [2]. Ten samples with different densities were acquired, 5 samples with 15 PCF (pounds per cubic foot) and 5 samples with 30 PCF.

2.2. Data acquisition

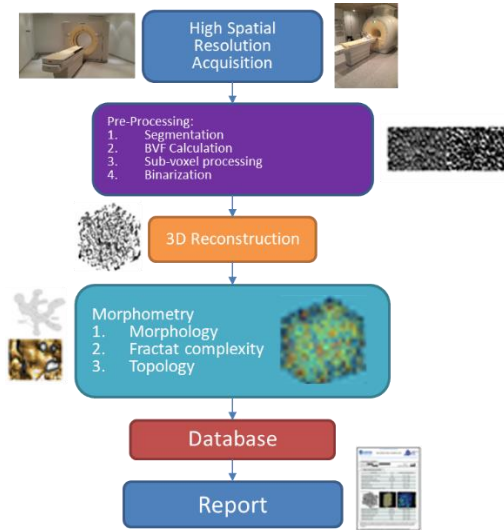
X-Ray images were acquired in a Philips Optimus 80 system with the following configuration: 66KV, 16,7mAs, 25 ms, focus distance: 102cm

CT acquisition was performed in a Philips Brilliance system with 64 detectors and the following parameters: slice thickness=0.67mm, KVP=120, spacing between slices=0.67mm, pixel spacing=0.234mm.

MR scans were acquired in a Philips Achieva 3T system with an 8 channel sense head coil with the following geometry parameters: slice thickness=0.5mm, spacing between slices=0.25mm, pixel spacing=0.146mm. The bones were included in a recipient of methacrylate that was filled with water in order to have contrast in the MR acquisition. The sequence consisted on a 3D turbo spin-echo (TSE) sequence with T2 weighting (TE=0.1, TR=1.5s).

2.3. Pipeline analysis

After the acquisition was completed, the imaging studies were sent to the Picture Archiving and Communication System (PACS), and analyzed with the Quibim (QUIBIM SL, Valencia, Spain) quidBone® pipeline accessible at www.quibim.com. Results of the analysis are shown on structural report.



The pipeline implements several algorithms to measure bone properties. Analysis algorithms are analogous across all imaging modalities, mainly differing on the pre-processing steps and on the lack of 3D geometry on plain X-rays.

MR scans need to be pre-processed, since trabecular bone appears black, and the only signal is that of bone marrow (i.e. emulated by water in the phantom). A Bone Volume Fraction (BVF) algorithm was used to correct signal heterogeneities and obtain the bone map through Laplacian thresholding [4].

$$\langle L \rangle_{\bar{r}}(I) \quad (1)$$

A binarization step was performed next for all imaging modalities with Otsu's thresholding method, which minimizes intra-class variance, helping achieve an optimal differentiation of trabecular bone and water [5]. Once the images were pre-processed, several imaging biomarkers were extracted. Bone volume to total volume (BV/TV) defines the ratio of bone contained in the volume:

$$\frac{BV}{TV} = \frac{n_{bone\ voxels}}{n_{total\ voxels}} \quad (2)$$

Trabecular thickness (Tb.Th) and trabecular separation (Tb.Sp) were calculated in a complimentary way, using the distance transform to compute the distance from the skeleton to the contour pixels(6):

$$Tb.Th = \frac{\sum_c \frac{\sum_{p \in Sk} 2 \cdot d_{min} \cdot \rho}{|Sk|}}{|c|} \quad (3)$$

Trabecular index (Tb.N) is a ratio between BV/TV and Tb.Th:

$$Tb.N = \frac{BV/TV}{Tb.Th} \quad (4)$$

A fractal dimension analysis was performed to assess the bone irregularity. This analysis was performed in 2D (D2D) and 3D (D3D) for each sample.

$$\log(N) = -D^{2D} \cdot \log(\lambda) + k \quad (5)$$

$$\log(N) = -D^{3D} \cdot \log(\lambda) + k \quad (6)$$

A multivariate parameter provided by the analysis pipeline was also taken into account, the Quality of Trabecular Structure (QTS) parameter. It summarizes trabecular bone morphometry and complexity imaging biomarkers in a single score to grade bone quality.

3. Results

Results from X-Ray, MDCT and MR analysis are collected in a Table 1, 2 and 3 respectively. (D3D value is not calculated from X-Ray analysis.)

Sample	BVTV (%)	TbTh-mean (μm)	TbSp-mean (μm)	TbN-Value	D2D-Value	QTS-Value
30PCF_1	32.828	334.771	530.110	0.981	1.769	2.634
30PCF_2	35.067	329.091	468.721	1.066	1.826	2.863
30PCF_3	35.167	322.543	455.133	1.090	1.839	2.809
30PCF_4	33.131	334.628	500.853	0.990	1.823	2.740
30PCF_5	34.839	325.764	482.800	1.069	1.829	2.791
15PCF_6	33.305	331.520	528.129	1.005	1.803	2.671
15PCF_7	34.188	334.444	487.612	1.022	1.819	2.836
15PCF_8	35.490	331.103	485.188	1.072	1.846	2.937
15PCF_9	33.863	336.113	520.833	1.007	1.829	2.816
15PCF_10	34.793	332.951	515.551	1.045	1.855	2.887

Table 1 Results from X-Ray analysis

Sample	BVTV (%)	TbTh-mean (μm)	TbSp-mean (μm)	TbN-Value	D2D-Value	D3D-Value	QTS-Value
30PCF_1	31.317	918.863	1685.177	0.341	1.589	2.554	9.414
30PCF_2	32.730	998.919	1766.154	0.328	1.613	2.538	10.662
30PCF_3	24.316	960.227	2.040.900	0.253	1.553	2.449	9.267
30PCF_4	21.178	856.802	1846.500	0.317	1.573	2.477	8.088
30PCF_5	28.602	873.640	1772.603	0.327	1.631	2.627	8.529
15PCF_6	18.744	677.680	1999.867	0.277	1.501	2.523	4.643
15PCF_7	17.079	803.136	2232.285	0.213	1.574	2.394	6.318
15PCF_8	15.063	682.401	2247.882	0.221	1.479	2.400	4.258
15PCF_9	14.514	620.699	2055.197	0.234	1.512	2.474	3.477
15PCF_10	16.710	628.125	1922.105	0.266	1.563	2.462	3.911

Table 2 Results from MDCT analysis

Sample	BVTV (%)	TbTh-mean (μm)	TbSp-mean (μm)	TbN-Value	D2D-Value	D3D-Value	QTS-Value
30PCF_1	32.879	456.407	936.030	0.720	1.598	2.502	3.481
30PCF_2	27.217	350.659	896.929	0.776	1.600	2.386	1.674
30PCF_3	25.116	333.546	955.316	0.753	1.640	2.415	1.268
30PCF_4	27.726	457.624	1075.781	0.606	1.579	2.391	2.983
30PCF_5	26.940	376.397	950.282	0.716	1.687	2.431	2.037
15PCF_6	21.504	537.755	1411.454	0.399	1.563	2.363	3.361
15PCF_7	19.845	387.572	1187.688	0.512	1.561	2.417	1.268
15PCF_8	16.890	389.777	1339.316	0.433	1.555	2.415	0.929
15PCF_9	19.853	439.574	1288.658	0.452	1.575	2.405	1.934
15PCF_10	17.838	409.906	1348.856	0.435	1.553	2.421	1.279

Table 3 Results from MR analysis

4. Discussion

The results obtained seem to indicate that there is a good correlation between the morphology analysis obtained from CT and MR scans, with a higher accuracy of CT, Table 4 is an example of the good correlation regarding

BVTV in both modalities and Figure 2 shows how different modalities are able to reproduce equals structures.

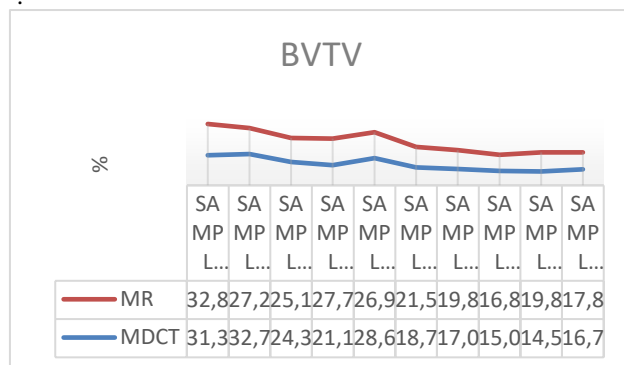


Table 4 BVTV from MR and MDCT

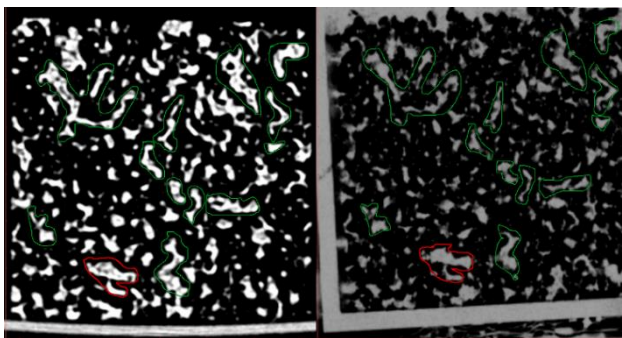


Figure: 1 The image corresponds to the same slice obtained from MDCT (left) and MR with inverted signal (right) and it is possible to identify several structures in both acquisitions

X-ray derived results remained similar with different bone porosities, demonstrating the lack of reliability of 2D techniques based on projection in the characterization of human bone quality. These data add insight into the existing knowledge on the behavior of the different imaging modalities with trabecular bone changing properties in patients with osteoporosis.

5. Acknowledgements

Authors acknowledge the funding support from the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness through project DFO (DPI2014-53401-C2-2-R).

References

- [1]. Rationale of the Spanish FRAX model in decisionmaking for predicting osteoporotic fractures: an update of FRIDEX cohort of Spanish women [Internet]. [cited 2016 Jul 6]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4912785/?rport=classic>
- [2]. Sawbones | Open Cell Block 15 PCF [Internet]. [cited 2016 Sep 29]. Available from: <http://www.sawbones.com/Catalog/Biomechanical/Biomechanical%20Test%20Materials/1522-524>
- [3]. Vasilic B, Wehrli FW. A novel local thresholding algorithm for trabecular bone volume fraction mapping in the limited spatial resolution regime of in vivo MRI. IEEE Trans Med Imaging. 2005 Dec;24(12):1574–85.

- [4] Ángel Alberich-Bayarri, Laura Nieto-Charques, David Moratal, Luis Martí-Bonmatí, Ana Vallés-Lluch, José J. Rieta, Clinical Software for the Assessment of Trabecular Bone Disease in Distal Radius Based on a Magnetic Resonance Structural Analysis. IEEE. 10.1109/IEMBS.2007.4352729
- [5]. Manjón JV, Coupé P, Buades A, Collins DL, Robles M. MRI Superresolution Using Self-Similarity and Image Priors. Int J Biomed Imaging. 2010;2010:1–11.
- [6]. Alberich-Bayarri A, Martí-Bonmatí L, Sanz-Requena R, Belloch E, Moratal D. In Vivo Trabecular Bone Morphologic and Mechanical Relationship Using High-Resolution 3-T MRI. Am J Roentgenol. 2008 Sep;191(3):721–6

Instrumentación Biomédica

Miércoles, 29 de Noviembre

Aerosol Delivery by Inhalation Catheter and Trachea Digitalization

I. Aramendia^{1*}, U. Fernandez-Gamiz¹, A. Lopez-Arraiza², M.A. Gomez-Solaetxe², L. Barrenetxea³, E. Solaberrieta³, R. Minguez³, J. Sancho¹

¹ Nuclear Engineering and Fluid Mechanics Department, University of the Basque Country UPV/EHU, Vitoria-Gasteiz, Araba, Spain,

² Department of Nautical Science and Marine Systems, University of the Basque Country UPV/EHU, Portugalete, Bizkaia, Spain.

³ Department of Graphic Design and Engineering Projects, University of the Basque Country UPV/EHU, Bilbao, Bizkaia, Spain.

*corresponding author: inigo.aramendia@ehu.eus

Abstract

Neonatal respiratory distress syndrome (RDS) is related with high mortality and morbidity in preterm infants and the best approach to treat it is an open research field. The use of perfluorocarbons (PFC) together with non-invasive respiratory support techniques, such as nasal continuous positive airway pressure (CPAP), has confirmed its effectiveness to achieve a more homogeneous surfactant distribution. The goal of the current study was to evaluate the main features of the aerosol generated by an intracorporeal inhalation catheter, which consists of one central lumen delivering the liquid and six peripheral lumens delivering compressed air. Firstly, experiments were made through an Aerodynamic Particle Sizer (APS) with sterile water and perfluorocarbon FC75 with a driving pressure of 4 bar to analyze properties linked with lung deposition such as the aerodynamic diameter (D_a), mass median aerodynamic diameter (MMAD) and geometric standard deviation (GSD). Subsequently, a numerical model was developed with CFD techniques. The experimental validation of the numerical model provides an accurate prediction of the air flow axial velocity.

1. Introduction

Extremely and very preterm infants present cerebral and pulmonary issues due to the immaturity of the lungs, primarily caused by the lack of surfactant. This leads to the Respiratory Distress Syndrome (RDS) of the newborn, which is the leading cause of death in premature babies [1]. This natural substance covers the alveoli, its main goal being to reduce the surface tension and, therefore, to prevent alveolar collapse at the end of the exhalation, retaining enough air to start the next breath.

The current surfactant replacement therapy implies some drawbacks, as the requirement of intubation and the application of ventilator support techniques, which can result in lung injury and chronic lung diseases (CLD) [2]. In this regard, the neonatologists are focused on new minimally invasive surfactant therapies (MIST) as an alternative to solve the current dilemma; how to deliver exogenous surfactant without invasive techniques when the application of continuous positive airway pressure (CPAP) is not enough [3].

The administration of nebulized surfactant is a promising technique to treat lung diseases and especially RDS, even though there are still technical issues and challenges to lead. Four clinical trials have been published showing that is a feasible and safe technique. However, only one of them [4] has demonstrated good results. Currently, Pillow and Minocchieri are working on a new clinical trial, the CureNeb study, where preterm infants receive either CPAP or CPAP and nebulized surfactant in the first 4 hours of life [5]. Another alternative is the use of perfluorocarbons (PFC). Burkhardt et al. [6] have demonstrated that is useful to improve surfactant distribution and that resulted in an improved oxygenation.

One of the main reasons of the low efficiency of nebulized surfactants in these clinical trials is the relative low lung deposition rates (less than 1% of the mass nebulized) with conventional jet and ultrasonic nebulizers. Nevertheless, Goikoetxea et al. [7] have studied the potential to deliver relatively large amounts of surfactants and perfluorocarbons beyond the third generation of branching in a neonatal airway model through an intracorporeal inhalation catheter (IC). The influence of four different ventilation strategies on surfactant and PFC aerosol production rate were studied in an *in vitro* study by Murgia et al. [8]. The results showed that higher peak inspiratory pressure (PIP) and higher respiratory rates (RR) might enhance surfactant and PFC delivery to the lungs but might also increase compound loss during expiratory phase.

Numerical models through Computational Fluid Dynamics (CFD) techniques provide a useful methodology to study the behavior of aerosol particles in the airways and to obtain valuable data related with airflow patterns, particle deposition and particle size distributions. Recently, Goikoetxea et al. [9] evaluated with a numerical model the aerosol delivery of surfactant and perfluorodecalin (PFD) by means of an inhalation catheter (IC). The results showed the beneficial effects of generating an intracorporeal aerosol with minimal airway manipulation.

2. Experimental Setup

An inhalation catheter (IC) (AeroProbe, Trudell Medical International), illustrated in Fig. 1, was used to produce the aerosol. Sterile water (H₂O_d) has been used to simulate the nebulization. The compressed air is delivered through six peripheral lumens and the liquid is delivered through the central lumen. The close proximity of these lumens at the catheter tip results in efficient aerosolization of the liquid. Additionally, the perfluorocarbon (PFC) compound FC-75 (C₈F₁₆O) has been tested.

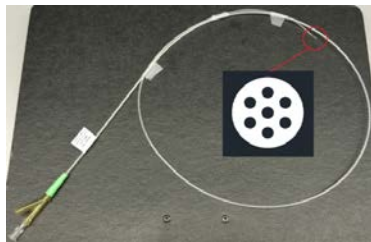


Figure 1. Inhalation catheter (IC 1.1)

An Aerodynamic Particle Sizer (APS 3321) has been used, which provides high-resolution of particles from 0.5 to 20 μm. The IC has been connected to a pressure control system, which allows to change the driving pressure between 0-7 bar. The scheme of Fig. 2 shows the equipment and experimental setup used to study the aerosol formation. The distal end of the IC has been aligned with the nozzle of the APS in order to obtain an accurate measurement of the aerosol generated and different distances between the distal end of the IC and the nozzle has been set to check the concentration of the aerosol. Even though the usable data of the APS is up to 10.000 particles/cm³, the average recommended particle concentration is 1000 particles/cm³

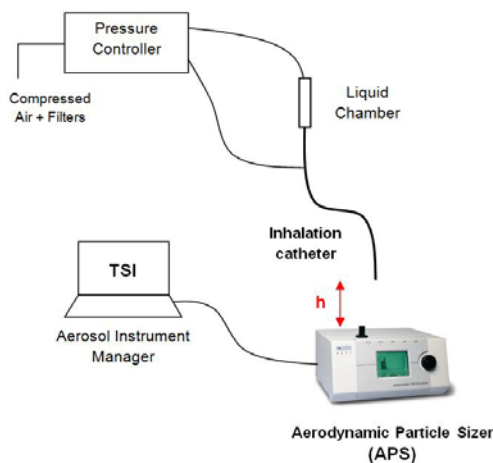


Figure 2. Experimental setup

3. Experimental results

Both compounds were studied with a driving pressure of 4 bar, as can be seen in Tables 1-2. Five samples were recorded for each case, with a sample time of 10 seconds. At first, it was necessary to establish the optimal distance between the catheter tip and the APS nozzle in order to obtain accurate measurements. It was found that the

optimal distance were 42 cm and 5.2 cm for the sterile water (H₂O_d) and the FC-75 respectively.

Sample	Da (μm)	MMAD (μm)	GSD	Concentration (particles/cm ³)
16	4.00	10.3	2.20	1040
17	4.09	10.3	2.19	1210
18	4.08	10.1	2.15	1240
19	4.12	9.89	2.14	1060
20	4.01	10.2	2.21	1050
MEAN	4.06	10.16	2.18	
SD	0.05	0.17	0.03	

Table 1. Experimental results with sterile water

The same procedure was carried out with the FC-75 compound with a driving pressure of 4 bar and its optimal distance. This data were used to validate the results of the numerical model.

Sample	Da (μm)	MMAD (μm)	GSD	Concentration (particles/cm ³)
1	2.47	10.5	1.70	1140
2	2.45	10.1	1.69	1160
3	2.44	10.3	1.70	1190
4	2.45	9.73	1.68	1210
5	2.43	9.42	1.68	1140
MEAN	2.45	10.01	1.69	
SD	0.01	0.44	0.01	

Table 2. Experimental results with FC75 compound

The geometric standard deviation (GSD), the mass median aerodynamic diameter (MMAD) and the aerodynamic diameter (Da) have been analyzed to study the particle size characterization. The GSD is a dimensionless number which gives an indication of the spread of sizes of particles that make up the aerosol. An aerosol is made up of particles of many different sizes (heterodisperse aerosol) with a GSD above 1.25. On the other hand, a GSD below 1.25 indicates that all the aerosol particles are of the same or very nearly the same size (monodisperse aerosol). The MMAD is defined as the value of the aerodynamic diameter (Da) such that half the mass of the aerosol is contained in small diameter particles and half in larger. The relationship between the aerodynamic particle diameter (Da) measured by the APS and the geometric particle diameter (D_g) is given by (1):

$$D_g = D_a \sqrt{\frac{\rho_0}{\rho}}$$

where ρ₀ is the unit density (1 g/cm³) and ρ the density of the compound to be nebulized, in this case ρ = 0.9982 g/cm³ for the sterile water and ρ = 1.78 g/cm³ for the FC75 compound.

4. Numerical model

In the work presented in this study the commercial CFD code Star CCM+ version 11.06 (CD Adapco®) was used to create and run the numerical model. The problem was simplified making an axisymmetrical assumption to define the computational domain in order to save

computational time in the simulation of the discrete particles. In this case, the six outer lumens are replaced by a ring, as shown in Fig. 4. The position of the air lumen (b_{lcn}) was maintained and the width of the ring was calculated by (3-5) in order to have the same area of the six outer lumens and consequently, the same air mass flow. The computational domain consists of the last 2 mm of the catheter and the downstream region beyond the catheter tip, as illustrated in Fig. 3. The outlet is located 52 mm away from the catheter tip, which is the optimal distance used for the experimental measurement of the FC-75 particle size distribution with the APS.

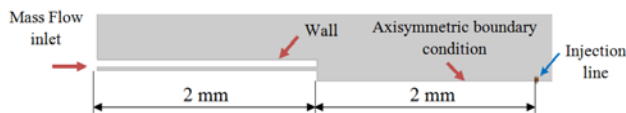


Figure 3. Computational domain and boundary conditions

An air mass flow rate of 1.1344×10^{-5} kg/s, measured in a previous work with a driving pressure of 4 bar [7], was defined as the inlet boundary condition along with a temperature of 293K and a turbulence intensity of 0.07. An atmospheric outlet boundary condition was fixed for downstream boundaries and the axisymmetrical condition was set to the central axis. Ten particle injections were defined, as can be seen in Table 3, to represent the particle size and mass distribution. The injection line was defined 2 mm away from the catheter tip as an estimated value between the APS nozzle and the laser beams which measures the distribution of the particles.

Injection	D_g (μm)	Mass flow rate (kg/s)
1	0.392	$3.41 \cdot 10^{-8}$
2	0.604	$2.68 \cdot 10^{-8}$
3	0.866	$3.17 \cdot 10^{-7}$
4	1.335	$2.41 \cdot 10^{-7}$
5	1.910	$6.88 \cdot 10^{-7}$
6	2.945	$1.20 \cdot 10^{-5}$
7	4.535	$6.31 \cdot 10^{-6}$
8	6.495	$1.55 \cdot 10^{-6}$
9	10.000	$1.61 \cdot 10^{-6}$
10	14.850	$4.90 \cdot 10^{-7}$

Table 3. Particle initial conditions obtained from experimental measurements

5. Numerical results and experimental validation

The continuity and Navier-Stokes equations are solved for the continuous phase (air) and the Newton's second law of motion is solved for the dispersed liquid droplets. Once the steady state air solution is converged the discrete phase was added by injection points defined within a line and simulated in transient state.

Fig. 4 illustrates the air flow velocity once the solution was converged. The highest value was reached close to the outlet of the catheter tip with a peak of 385 m/s. The velocity value 2 mm away from the outlet, where the injectors were defined, was 238 m/s [10].

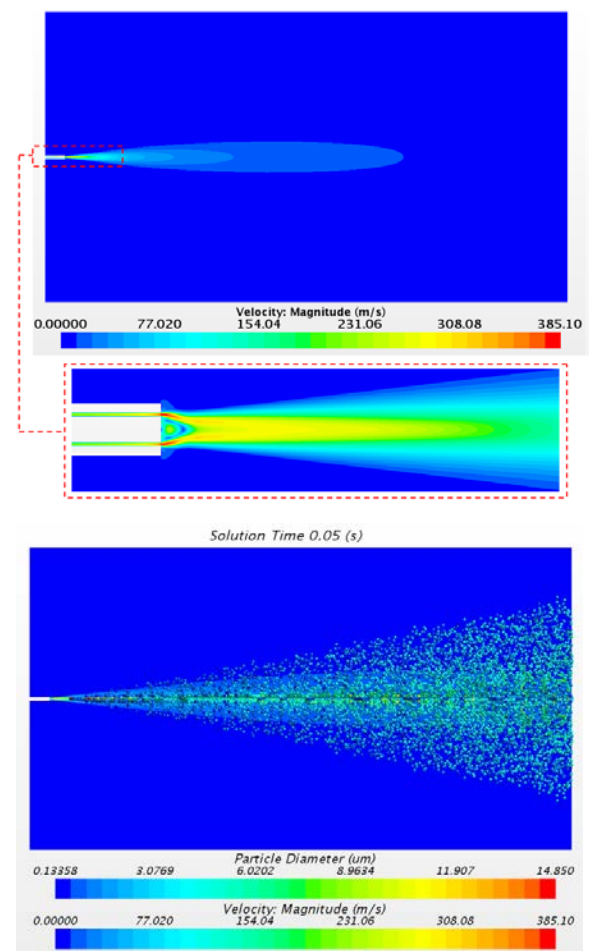


Figure 4. Continuous phase velocity magnitude and particle size distribution of the discrete particles

The axial velocity at different distances beyond the catheter tip were taken and validated with experimental data by means of a hot-wire constant temperature anemometer (Goikoetxea et al. [9]). The Realizable K-epsilon model used in the numerical model provides an accurate prediction of the air flow (See Fig.5).

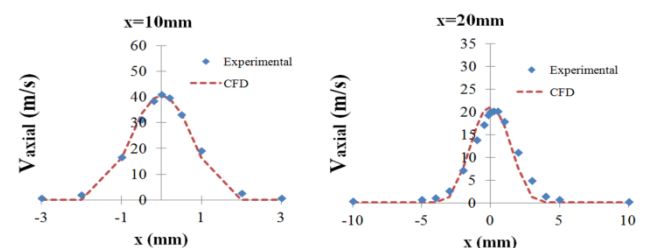


Figure 5. Experimental and numerical axial air velocity profiles

6. Trachea digitalization

A surface model was needed to perform the CFD analysis, so three tracheal segments from pigs were digitized. Initially, the pieces required to be divided in order to scan their interior. The cut would deform its inner shape due to the soft organic tissue composition of the tracheas. To minimize this situation, the exterior of the parts were previously scanned and two rigid plastic shells were prototyped from the surface. With the shells wrapping the tracheal segments, they were cut off, as

illustrated in Fig.6a. These housings fix the outer shape and minimize deformation inside the tracheal segment. The inner surface was scanned by structured blue light to filter out interfering ambient light. Afterwards, the point clouds were treated and optimized (See Fig.6b). In each case the two halves were joined together using the initial scan and shells as reference and exported to a format understandable for the CFD software (See Fig.6c). The task was carried out by the ATOS Compact Scan M5™ hardware, from GOM mbH manufacturer, and by the Geomagic Design X software, from 3D Systems Corporation.

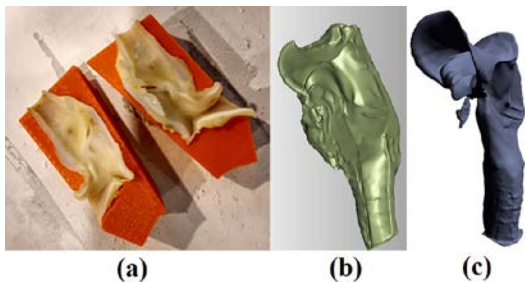


Figure 6. Process of trachea digitalization

Once the geometry was imported to the CFD code, the trachea segment was modified to add the catheter tip. An unstructured polyhedral mesh with 1.5 million cells was used in the domain, as shown in Fig. 7.

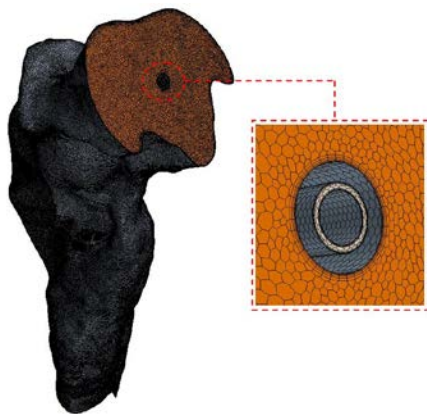


Figure 7. Mesh distribution of the geometry with the catheter tip

An air mass flow rate of $1.1344 \cdot 10^{-5}$ kg/s was defined as the inlet boundary condition to study the distribution of the velocity airflow through the trachea.

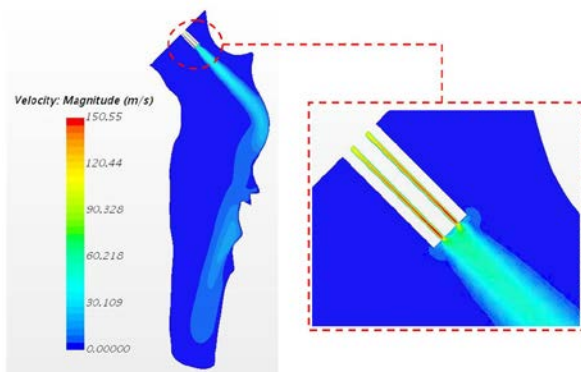


Figure 8. Numerical simulation of the air inside the trachea

7. Conclusions

The aerodynamic diameter (D_a) measured was between the optimal recommended values ($1-5 \mu\text{m}$) and even though the MMAD is around $10 \mu\text{m}$ the study is focused to generate the aerosol beyond the nasopharyngeal area, avoiding the deposition of big particles. Further work is necessary to implement the numerical model presented above to study the aerosol generated in the trachea.

Acknowledgments

This work has been supported by Consolidated Groups from the Basque Government. Technical and human support provided by IZO-SGI, SGIker is gratefully acknowledged.

References

- [1] Kamath BD, MacGuire ER, McClure EM, Goldenberg RL, Jobe AH. Neonatal mortality from respiratory distress syndrome: Lessons for low-resource countries. *Pediatrics*, vol 127, no 6, 2011, pp 1139-1146.
- [2] Jobe AH, Ikegami M. Mechanisms initiating lung injury in the preterm. *Early Human Development*, vol 53, no 1, 1998, pp 81-94.
- [3] Herting E. Less invasive surfactant administration (LISA) - Ways to deliver surfactant in spontaneously breathing infants. *Early Human Development*, vol 89, no 11, 2013, pp 875-880.
- [4] Jorch G, Hartl H, Roth B, Kribs A, Gortner L, Schaible T et al. Surfactant aerosol treatment of respiratory distress syndrome in spontaneously breathing premature infants. *Pediatric Pulmonology*, vol 24, no 3, 1997, pp 222-224.
- [5] Pillow JJ, Minocchieri S. Innovation in surfactant therapy II: Surfactant administration by aerosolization. *Neonatology*, vol 101, no 4, 2012, pp 337-344.
- [6] Burkhardt W, Kraft S, Ochs M, Proquitte H, Mense L, Rudiger M. Persurf, a new method to improve surfactant delivery: A study in surfactant depleted rats. *PLoS One*, vol 7, no 10, 2012, pp e47923.
- [7] Goikoetxea E, Murgia X, Serna-Grande P, Valls-i-Soler A, Rey-Santano C, Rivas A et al. In vitro surfactant and perfluorocarbon aerosol deposition in a neonatal physical model of the upper conducting airways. *PLoS One*, vol 9, no 9, 2014, pp e106835.
- [8] Murgia X, Gastiasoro E, Mielgo V, Alvarez-Diaz F, Lafuente H, Valls-i-Soler A et al. Surfactant and perfluorocarbon aerosolization by means of inhalation catheters for the treatment of respiratory distress syndrome: an in vitro study. *Journal of Aerosol Medicine and Pulmonary Drug Delivery*, vol 24, no 2, 2011, pp 81-87.
- [9] Goikoetxea E, Rivas A, Murgia X, Anton R. Mathematical modeling and numerical simulation of surfactant delivery within a physical model of the neonatal trachea for different aerosol characteristics. *Aerosol Science and Technology*, vol 51, no 2, 2017, pp 168-177.
- [10] Aramendia I, Fernandez-Gamiz U, Lopez-Arraiza A, Gomez-Solaetxe M.A, Lopez-Guede J.M, Sancho J, Basterretxea F.J. Computational characterization of aerosol delivery for preterm infants. *International Journal of Biology and Biomedical Engineering*, vol 11, 2017, pp 29-38

Dispositivo portable para la monitorización no obstructiva del ritmo respiratorio

D. Naranjo Hernández¹, L. M. Roa Romero¹, J. Reina Tosina^{1,2}, G. Barbarov Rostán¹, P. Cejudo Ramos³, E. Márquez-Martín³, R. Vázquez Sánchez³, F. Ortega Ruiz³

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Sevilla y CIBER-BBN, Sevilla, España, dnaranjo@us.es

² Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad de Sevilla, Sevilla, España

³ Unidad Médico-Quirúrgica de Enfermedades Respiratorias, Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, España

Resumen

En este trabajo se presenta una primera aproximación a un dispositivo portable para la monitorización no obstructiva del ritmo respiratorio por medio de la tecnología de sensorización capacitiva. El dispositivo de sensorización está integrado en una prenda de vestir, de bajo coste y confortable, para una monitorización de la respiración continuada de pacientes con enfermedades respiratorias en el contexto de una aplicación de e-Salud. Para validar la propuesta, se han realizado una serie de experimentos preliminares en un entorno controlado comparando el funcionamiento del dispositivo respecto a un patrón de referencia. Los resultados obtenidos han demostrado la viabilidad del dispositivo y del método de validación propuesto.

1. Introducción

Los sistemas de e-Salud, junto con los dispositivos sensores inteligentes que permitan la supervisión en tiempo real de parámetros clínicos relevantes en el propio domicilio del usuario, se consideran un enfoque prometedor para la prevención y tratamiento de las enfermedades respiratorias [1]. El propósito de estos sistemas no es solo la telemonitorización y registro de las variables fisiológicas (frecuencia respiratoria y cardíaca, presión sanguínea, electrocardiograma, saturación de oxígeno en sangre [2], flujo de aire espirado, etc.), sino también motivar a los pacientes para que adopten habilidades de auto-cuidado, mejorar su calidad de vida, minimizar las exacerbaciones recurrentes y las tasas de reingreso [3], así como la salvaguarda de la seguridad del paciente y el establecimiento de un sistema de alarmas ante situaciones indeseadas.

Para la monitorización continua respiratoria se han propuesto numerosas tecnologías de sensorización como micrófonos, transmisores de ultrasonidos [4], pletismografía de inductancia, bioimpedancia [5], sensores de presión integrados en la ropa, sensores piezorresistivos [6], basados en métodos inductivos [7], sistemas basados en redes de Bragg en fibra óptica [8] o acoplamiento capacitivo [9]-[12]. Sin embargo, muchos de los desarrollos propuestos tienen la desventaja de requerir de un emplazamiento especial del sensor, muchas veces incómodo para el sujeto, no tienen suficiente sensibilidad o requieren de un procesamiento especial de la señal que afecta gravemente a la duración de las baterías [9].

2. Material y métodos

Teniendo en cuenta los condicionantes previos, se empleará la tecnología de sensorización capacitiva para implementar el prototipo de sensor inteligente portable para la monitorización no obstructiva del ritmo respiratorio. Dicha tecnología proporciona una alta sensibilidad con la ventaja añadida de que no requiere contacto directo con medio a medir [9]-[13]. La tecnología de sensorización capacitiva permite integrar el sistema de captura de señal en una prenda que puede ser llevada cómodamente por el sujeto monitorizado [9], [10]. Esta técnica está basada en la medida de la capacidad eléctrica existente entre dos láminas metálicas (electrodos), que se sitúan alrededor del tejido torácico que actúa como material dieléctrico. Ha sido validada con medidores comerciales de capacidad [9], aunque algunos autores han propuesto sistemas portables basados en osciladores LC que permiten medir con precisión la capacidad [11], [12].

Para una primera validación del sensor se ha realizado un estudio cuasi-experimental sobre sujetos sanos en un entorno clínico controlado emulando las condiciones en las que el dispositivo sería finalmente empleado. El funcionamiento del dispositivo ha sido contrastado con un sistema clínico comercial portable e inalámbrico diseñado para la realización de pruebas de esfuerzo cardiopulmonar (Oxycon de CareFusion), que fue empleado como patrón de referencia. Ambos dispositivos fueron colocados sobre los voluntarios para la realización de medidas simultáneas. Los tiempos de inspiración y espiración, así como la frecuencia respiratoria fueron almacenados en ambos dispositivos para su posterior análisis.

Además, se ha realizado un análisis comparativo de las medidas del sensor capacitivo respecto del dispositivo de referencia empleando parámetros estadísticos como el valor medio del error y la desviación estándar del error. También se ha calculado el coeficiente de correlación de Pearson, considerando resultados estadísticamente significativos una $p < 0.05$. Dicho análisis fue realizado en el entorno de programación Matlab.

3. Resultados

3.1. Diseño del sensor capacitivo

El diseño del sensor sigue un esquema de diseño genérico y modular que comprende los siguientes elementos:

- **Unidad de Sensorización:** constituye el elemento de adquisición de la señal monitorizada. Está formado por el sistema de electrodos y la etapa de acondicionamiento de señal.
- **Unidad de Procesado:** responsable del procesamiento de la señal oscilatoria para estimar el ritmo respiratorio instantáneo. Como unidad de procesado se ha empleado un microcontrolador PIC32 MX440F256 de Microchip. El resultado de la estimación puede ser almacenado en una memoria interna o enviado de forma inalámbrica en tiempo real.
- **Unidad de Comunicaciones:** el módulo Bluetooth HC-06 de Wavesen ha sido elegido para implementar la unidad de comunicaciones del sensor. Dicha unidad se ocupa de la transmisión inalámbrica del ritmo respiratorio a un segundo dispositivo denominado dispositivo de análisis y decisión (DAD). El DAD puede conectar con otros sensores biomédicos formando una red inalámbrica de sensores corporales. Además, el DAD realiza un análisis avanzado de la información de los sensores y conecta, si es necesario, con un sistema de e-Salud.

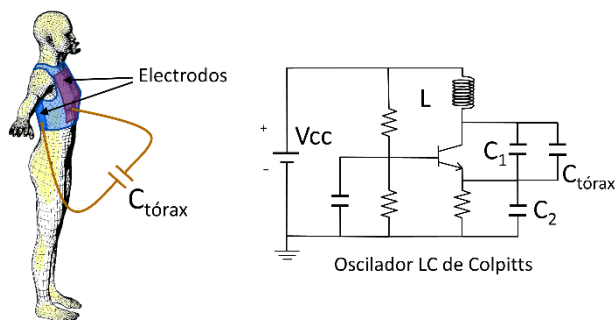


Figura 1. Sistema de electrodos y oscilador de Colpitts.

3.2. Sistema de electrodos

En el sistema propuesto, dos electrodos metálicos están situados uno a cada lado del torso (uno en la espalda y otro en el pecho) sin estar en contacto directo con él, como muestra la Figura 1. Dichos electrodos están integrados en una prenda elástica de forma que la capacidad eléctrica que se establece puede aproximarse a la siguiente expresión:

$$C_{\text{tórax}} = \epsilon_r \epsilon_0 \frac{A}{D}$$

donde ϵ_0 es la permitividad del vacío, ϵ_r es la permitividad relativa global del tórax, A es el área de los electrodos y D es la distancia entre los electrodos. De este modo, la capacidad eléctrica resultante estará afectada por los cambios de volumen en el tórax al respirar. Como la inspiración expande la cavidad torácica, en el instante de volumen pulmonar máximo la capacidad eléctrica es mínima y el instante de volumen pulmonar mínimo se corresponde a la máxima capacidad.

3.3. Etapa de acondicionamiento de señal

El elemento base de la etapa de captura de señal es un oscilador LC, formado por una bobina y un condensador (circuito tanque LC). Para el diseño del sensor se ha seleccionado el oscilador de Colpitts en la configuración de base común, debido a sus características de robustez. La Figura 1 muestra también un dibujo esquemático del oscilador. Su funcionamiento está basado en el intercambio de energía entre el condensador y la bobina. Este intercambio de energía genera una onda senoidal, la cual es mantenida en el tiempo gracias a un transistor bipolar, que realiza una retroalimentación y amplificación de la onda. La frecuencia de oscilación f_0 depende directamente del valor de inductancia de la bobina y las capacidades eléctricas según la siguiente ecuación:

$$f_0 = \frac{1}{2\pi \sqrt{L \frac{C_1 C_2}{C_1 + C_2}}}$$

La capacidad C_1 suele tener un valor muy inferior a $C_{\text{tórax}}$, por lo que no aparece en la expresión anterior. Sin embargo, se incluye en el diseño para asegurar la oscilación en aquellas situaciones en las que $C_{\text{tórax}}$ sea muy baja.

Los electrodos están conectados al oscilador mediante cables coaxiales. El voltaje de salida del oscilador, desacoplado mediante un amplificador operacional en la configuración de seguidor de tensión, se aplica a la malla metálica de los cables, ya que unos experimentos previos mostraron que este esquema reducía el ruido y aumentaba la sensibilidad. Finalmente, un operacional en la configuración de comparador convierte la onda senoidal en una onda cuadrada.

3.4. Unidad de Procesado

La Unidad de Procesado cuenta el número de flancos de subida de la señal cuadrada durante un periodo prefijado de tiempo (50 milisegundos), y a partir de estos datos, establece la frecuencia de oscilación instantánea del sensor capacitivo. En los experimentos realizados la frecuencia de oscilación está en el rango comprendido entre 400 kHz a 650 kHz. Para realizar la estimación del ritmo respiratorio, la frecuencia de oscilación instantánea se procesa mediante un algoritmo de cuatro etapas.

- En la primera etapa se realiza un filtrado paso de baja (Butterworth de cuarto orden y frecuencia de corte de 4 Hz) para suavizar la señal y eliminar las componentes de ruido.
- En la segunda etapa se fijan los instantes temporales correspondientes a los valores máximos y mínimos de la señal filtrada.
- En la tercera etapa se fijan los tiempos de inspiración y espiración instantáneos teniendo en cuenta que el instante de máximo volumen pulmonar se corresponde con un máximo en la frecuencia de oscilación y el instante de mínimo volumen pulmonar se corresponde con un mínimo en la frecuencia de oscilación.
- En la cuarta etapa, el ritmo respiratorio instantáneo se determina como el inverso del ciclo respiratorio

completo (tiempo de inspiración y tiempo de espiración) promediado durante un periodo de tiempo configurable.

3.5. Resultados de validación

El estudio de validación fue realizado sobre dos voluntarios jóvenes y aparente condición sana cuyas características antropométricas se muestran en la Tabla 1.

	Edad (años)	Estatura (cm)	Peso (kg)	Sexo
Voluntario 1	36	180	100	varón
Voluntario 2	43	172	80	varón

Tabla 1. Características antropométricas de los voluntarios participantes en el estudio.

Durante los experimentos los voluntarios realizaron una secuencia programada de actividades. En la primera fase de los experimentos el voluntario permaneció sentado. En un momento determinado, mantuvo la respiración durante 25 segundos, como muestra el máximo en el tiempo de inspiración. En una segunda fase el sujeto permaneció de pie y fue incrementando de forma secuencial y controlada el tiempo de inspiración y espiración. Este experimento fue repetido dos veces por cada uno de los voluntarios para un tiempo total de experimentación de 30 minutos. Las Figuras 2, 3 y 4 muestran a modo de ejemplo los tiempos de inspiración, de espiración y la frecuencia respiratoria obtenidas en uno de los experimentos realizados. La Figura 5 muestra un ejemplo de señal generada por la etapa de acondicionamiento de señal.

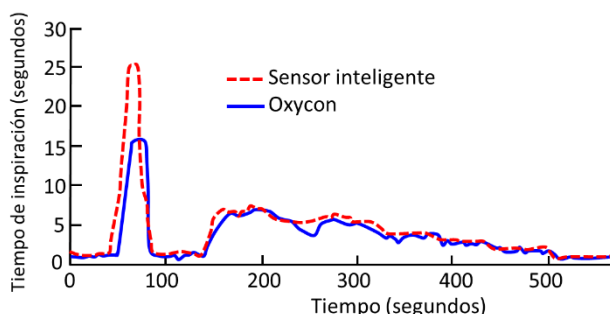


Figura 2. Tiempo de inspiración en uno de los experimentos del voluntario 1.

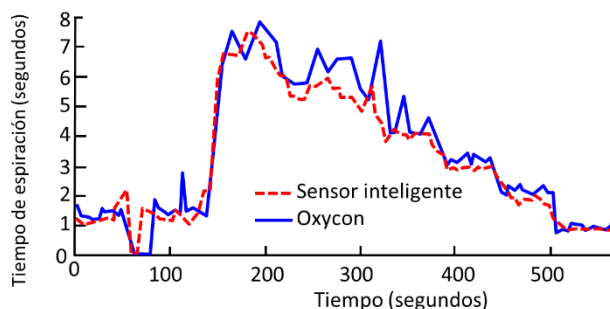


Figura 3. Tiempo de espiración en uno de los experimentos del voluntario 1.

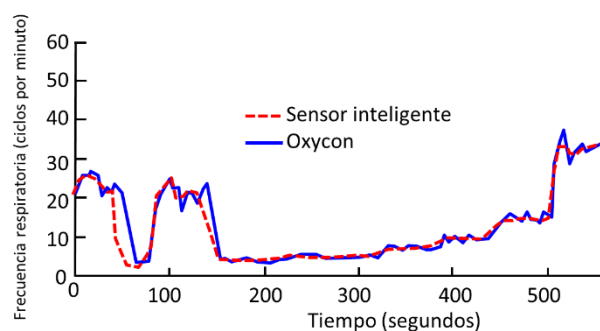


Figura 4. Frecuencia respiratoria en uno de los experimentos del voluntario 1.

La Tabla 2 muestra los resultados del análisis comparativo de las medidas del sensor capacitivo respecto del dispositivo de referencia para el tiempo de inspiración y el tiempo de espiración (en segundos) y la frecuencia respiratoria (en respiraciones por minuto o rpm).

	e_m	σ_e	r
Tiempo de inspiración	0.3 seg.	0.44 seg.	0.975
Tiempo de espiración	-0.41 seg.	0.5 seg.	0.975
Frecuencia respiratoria	0.01 rpm	0.97 rpm	0.995

Tabla 2. Resultados estadísticos del análisis comparativo (valor medio del error e_m , desviación estándar del error σ_e , coeficiente de correlación r). La significación estadística p fue inferior a 0.0005 en todas las variables).

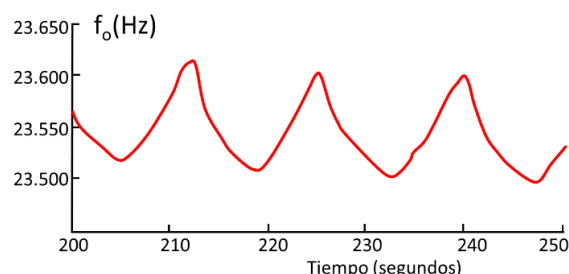


Figura 5. Variación de la frecuencia de oscilación en una ventana temporal del experimento del voluntario 1.

4. Discusión

Los resultados obtenidos en el análisis comparativo han puesto de manifiesto la viabilidad técnica y funcional del prototipo propuesto. Para el diseño del sensor se ha seleccionado el oscilador de Colpitts en la configuración de base común, debido a sus características de robustez. La Figura 1 muestra también un dibujo esquemático del oscilador. Además, en las condiciones del estudio realizado, el sensor propuesto ha mostrado en algunos casos mejores prestaciones respecto al sistema de referencia.

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta primera evaluación, el sensor inteligente fue más preciso a la hora de estimar de forma instantánea los tiempos de inspiración

y espiración. Como puede observarse en la Figura 3, la duración del periodo durante el cual el voluntario mantuvo la respiración (inspiración) fue aproximada con bastante exactitud por el sensor inteligente (25 segundos). En cambio, el promedio realizado por el dispositivo de referencia impide alcanzar esta precisión.

Otro aspecto a destacar de los resultados obtenidos en este estudio preliminar ha sido la estabilidad de las estimaciones. Como puede observarse en la Figura 4 y en la segunda fase de los experimentos, la señal estimada por el sensor propuesto se aproxima a la señal en escalón prevista con una mayor estabilidad y un menor número de artefactos que el dispositivo de referencia.

Como valor añadido respecto del dispositivo de referencia, el sistema propuesto permite ofrecer una estimación en tiempo real del proceso respiratorio y su intensidad en cada momento, como muestra la señal de la Figura 5. La forma de onda proporciona información más detallada del proceso respiratorio, lo que puede ser de utilidad en diagnóstico y seguimiento de múltiples patologías.

Además, la prenda con el sensor inteligente fue mucho más cómoda para el sujeto que el dispositivo de referencia, el cual capta el ritmo respiratorio a través de una máscara que incluye un espirómetro. Como la frecuencia respiratoria está influenciada también por el sistema nervioso autónomo, el sentimiento de confinamiento e incomodidad resultante del sistema de captura de señal del patrón de referencia podría afectar de forma involuntaria a la respuesta respiratoria, circunstancia que evitaría el sensor propuesto.

5. Conclusión

El presente trabajo ha mostrado una descripción del diseño de una primera aproximación a un sensor inteligente portable para la monitorización del ritmo respiratorio. Los requisitos de diseño de dicho dispositivo han sido un bajo coste, una alta sensibilidad y un uso sencillo y no obstructivo para el paciente. Para tal fin, el sistema propuesto hace uso de tecnologías no intrusivas, de bajo coste y con alta sensibilidad de detección, mediante los principios de sensorización capacitiva de los osciladores LC.

También se ha mostrado una primera validación del sensor capacitivo mediante un estudio cuasi-experimental realizado sobre sujetos sanos en un entorno clínico controlado, empleando un sistema clínico de precisión como sistema de medida de referencia. Actualmente el sensor está siendo utilizado en una aplicación de monitorización de pacientes respiratorios, para la cual los autores están investigando nuevos algoritmos de procesado que permitan desacoplar las componentes de movimiento de la señal respiratoria, posibilitando así una detección robusta cuando el sujeto camina o hace los ejercicios de rehabilitación.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en parte por la Fundación Progreso y Salud (Junta de Andalucía), bajo los proyectos PI-0010-2013 y PI-0041-2014, en parte por el Fondo de

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

Referencias

- [1] Ambrosino N, Makhabah DN, Sutanto YS. Tele-medicine in respiratory diseases. *Multidisciplinary Respiratory Medicine*, vol 12, num 1, 2017 (ISSN: 1828-695X).
- [2] Noury, N., Perriot, B., Noury, N., Argod, J., Pepin, J.-L. Monitoring physical activities of COPD patients with a network of sensors, *IRBM*, vol 35, num 6, 2014, pp. 329-333 (ISSN: 1959-0318).
- [3] Cao Z, Zhu R, Que RY. A Wireless Portable System With Microsensors for Monitoring Respiratory Diseases. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol 59, num 12, 2012, pp 3110-3116 (ISSN: 0018-9294).
- [4] Heldt GP, Ward Iii RJ. Evaluation of Ultrasound-Based Sensor to Monitor Respiratory and Nonrespiratory Movement and Timing in Infants. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol 63, num 3, 2016, pp. 619-629 (ISSN: 0018-9294).
- [5] Ionescu CM, Copot D. Monitoring respiratory impedance by wearable sensor device: Protocol and methodology, *Biomedical Signal Processing and Control*, vol 36, 2017, pp. 57-62 (ISSN: 1746-8094).
- [6] Guo L, Berglin L, Wiklund U, Mattila H. Design of a garment-based sensing system for breathing monitoring. *Textile Research Journal*, vol 83, num 5, 2013, pp 499-509 (ISSN: 0040-5175).
- [7] Kranjec J, Begus S, Drnovsek J, Gersak G. Novel methods for noncontact heart rate measurement: A feasibility study. *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, vol 63, num 4, 2014, pp 838-847 (ISSN: 0018-9456).
- [8] Massaroni C, Saccomandi P, Formica D, et al. Design and Feasibility Assessment of a Magnetic Resonance-Compatible Smart Textile Based on Fiber Bragg Grating Sensors for Respiratory Monitoring. *IEEE Sensors Journal*, vol 16, num 22, 2016, pp 8103-8110 (ISSN: 1530-437X).
- [9] Ghasemzadeh H, Ostadabbas S, Guenterberg E, Pantelopoulos A. Wireless medical-embedded systems: A review of signal-processing techniques for classification. *IEEE Sensors Journal*, vol 13, 2013, pp. 423-437 (ISSN: 1530-437X).
- [10] White NM, Ash J, Wei Y, Akerman H. A Planar Respiration Sensor Based on a Capaciflector Structure. *IEEE Sensors Letters*, vol 1, num 4, 2017, pp 1-4 (ISSN: 2475-1472).
- [11] Kundu SK, Kumagai S, Sasaki M. A wearable capacitive sensor for monitoring human respiratory rate. *Japanese Journal of Applied Physics*, vol 52, 2013 (ISSN: 0021-4922).
- [12] Takano M, Yamagishi S, Ohmura T, Fukuoka Y, Ueno A. Non-Contact Simultaneous Measurements of Electrocardiogram and Respiratory Movements Using Capacitive Sheet Electrodes. *Advanced Biomedical Engineering*, vol 6, 2017, pp 28-36 (ISSN: 2187-5219).
- [13] Naranjo D, Roa L, Reina J, et al. Diseño e Implementación de un Sensor Inteligente para la Monitorización del Ritmo Respiratorio. XXX Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica, San Sebastián, España, 2012.

Diseño de plataforma para la captura y análisis de datos de electroencefalografía combinados con fotopletismografía para la detección de umbrales de dolor en población sana y patológica

M. Núñez Ibero¹, J. M. Cortés^{1,2,3*}, J. Ortiz Álvarez-Cienfuegos^{4*}

¹ Department of Cell Biology and Histology, University of the Basque Country, Leioa, Spain, maidernunezibero@gmail.com

² Biocruces Health Research Institute, Cruces University Hospital, Barakaldo, Spain,

³ Ikerbasque: The Basque Foundation for Science, Bilbao, Spain,

⁴ Department of Electronic Technology, University of the Basque Country, Bilbao, Spain,

*Equal-last author contribution

Resumen

¿Es posible que las ondas eléctricas del cerebro (registradas mediante electroencefalografía, EEG) y su interacción con las hemodinámicas (registradas mediante fotopletismografía, PPG) puedan determinar de alguna manera situaciones de dolor progresivo? La respuesta a esta pregunta todavía hoy se desconoce. En este estudio, haciendo uso de Biopac y software tales como OrCad y Matlab se ha diseñado y desarrollado una plataforma, que por un lado genera un estímulo térmico controlado gracias al aumento de temperatura de una placa Peltier, llegando a ser "doloroso" y por otro, captura simultáneamente las señales EEG y PPG. Después de colocar en la frente del participante y en su mano derecha los sensores correspondientes, y su mano izquierda sobre la placa Peltier, se realizan 3 registros diferentes: uno, para determinar su tolerancia máxima al aumento progresivo de temperatura, otro, a temperatura ambiente y por lo tanto representando una situación de "no dolor", y el último, a temperatura cercana al umbral del dolor. En un futuro, se pretende añadir más variables fisiológicas al estudio, así como utilizar diversos métodos para analizar la interacción entre las señales con el fin de conseguir revelar tendencias previamente no identificadas, primero, en sujetos sanos, y finalmente, en poblaciones patológicas.

1. Introducción y objetivo

La conjugación de la investigación biomédica y las tecnologías electrónicas en el campo de las neurociencias ha permitido constantes mejoras en la detección de señales fisiológicas y análisis de datos, y los consecuentes avances en la etiología y diagnóstico de enfermedades e investigación clínica y básica.

Entre las respuestas fisiológicas con más incógnitas a la hora de encontrar las causas de su variación, se encuentran las que dependen del sistema nervioso autónomo, por ejemplo, la actividad bioeléctrica cerebral, la sudoración o la variabilidad del ritmo cardíaco.

Por otro lado, la adquisición simultánea de respuestas fisiológicas y el análisis de sus interacciones han permitido la creación de un nuevo campo de investigación llamado "Medicina de redes" [1], que intenta entender la comunicación e interacción entre diferentes órganos para cooperar a un nivel sistémico. Su campo de aplicación

puede permitir el diagnóstico cada vez más temprano y fiable de enfermedades, así como el control de su evolución y síntomas, gracias a la determinación precisa y cuantitativa de las respuestas fisiológicas y su interacción en poblaciones patológicas con respecto a la población sana.

El objetivo de este estudio es capturar datos de electroencefalografía combinados con fotopletismografía y estudiar su interacción para la detección de umbrales de dolor.

Para ello se ha diseñado un sistema portátil de generación de estímulos y grabación de señales que realiza un adecuado registro de respuestas fisiológicas, y permite la monitorización en tiempo real, así como el almacenamiento de datos para un análisis posterior. En un futuro, se pretende validar esta plataforma en población sana y patológica.

La hipótesis principal es que la monitorización simultánea de las variables en estado fisiológico basal en comparación al estado fisiológico sometido a cambios controlados de estímulos proporcionará información sobre los patrones de excitación y regulación simpática y ayudará a revelar tendencias previamente no identificadas.

2. Materiales

En lo que respecta al diseño y fabricación de circuitos electrónicos para la generación de estímulos, se ha utilizado el software OrCAD® [2] para la automatización del diseño electrónico, y la fotolitografía y procesado químico para su fabricación. Una vez diseñados y fabricados los circuitos electrónicos, fue necesaria la soldadura y montaje de sus componentes, trabajo que se llevó a cabo en el laboratorio de Tecnología Electrónica de la Escuela de Ingeniería de Bilbao.

El postproceso se realizó con el software MATLAB® [3], por un lado, para la creación del interfaz de usuario y la comunicación con los dispositivos hardware para la generación de estímulos, y por otro, el procesamiento de las señales fisiológicas, el despliegue de algoritmos y la representación de funciones e imágenes.

Para la lectura de las variables fisiológicas, se configuró y utilizó el sistema BioPac™ [4,5].

El procesamiento de datos obtenidos mediante el BioPac, se realizó gracias al programa AcqKnowledge. Este programa es un paquete potente y flexible que registra, analiza y filtra los datos en tiempo real. Los datos pueden ser impresos en formato de registro continuo o bien como un diagrama X-Y o un histograma. En este caso, se utilizó la versión BSL PRO 3.7.

3. Métodos

Las variables fisiológicas que se pretenden adquirir son las de electroencefalografía en ambos hemisferios cerebrales (EEG), las de fotopleletismografía (PPG) y los eventos cercanos al umbral de dolor (sensación térmica al aumentar progresivamente la temperatura de una placa Peltier donde el participante tiene apoyada la mano).

Para ello, el sujeto se sienta frente a una mesa y un ordenador, y visualiza un vídeo de relajación con el objeto de iniciar la prueba en un estado emocional de tranquilidad. Una vez terminado el vídeo, se registran 3 intervalos de 2 minutos de duración, separados por periodos de descanso de 3 minutos cada uno.

En el primer periodo, se pretende estimar la intensidad del estímulo de máxima tolerancia y determinar el rango de

temperaturas a trabajar. Para ello, el participante coloca la mano en la placa y mediante el BioPac™ se registran sus variables al aumentar progresivamente la temperatura de forma controlada. Los datos del rango de temperaturas a trabajar se normalizarán con respecto a la temperatura de máxima tolerancia con el fin de realizar un análisis comparativo entre diferentes participantes.

En el segundo, se recogerán sus variables fisiológicas fijando la temperatura de la placa a temperatura ambiente.

Finalmente, en el tercer intervalo, se registran sus variables fisiológicas fijando la temperatura de la placa a temperaturas cercanas a la máxima tolerancia (el “umbral de dolor”).

4. Resultados

En la figura 1 se puede observar el sistema completo de captación y visualización: por un lado, el BioPac™, y por otro, el equipo de generación de estímulos conectado a un equipo portátil donde se visualiza el programa AcqKnowledge® mostrando las señales recogidas por los sensores de PPG (1), temperatura (2) y EEG (3,4) así como la referencia introducida por un botón que introduce marcas representativas del punto cercano al umbral del dolor (5).

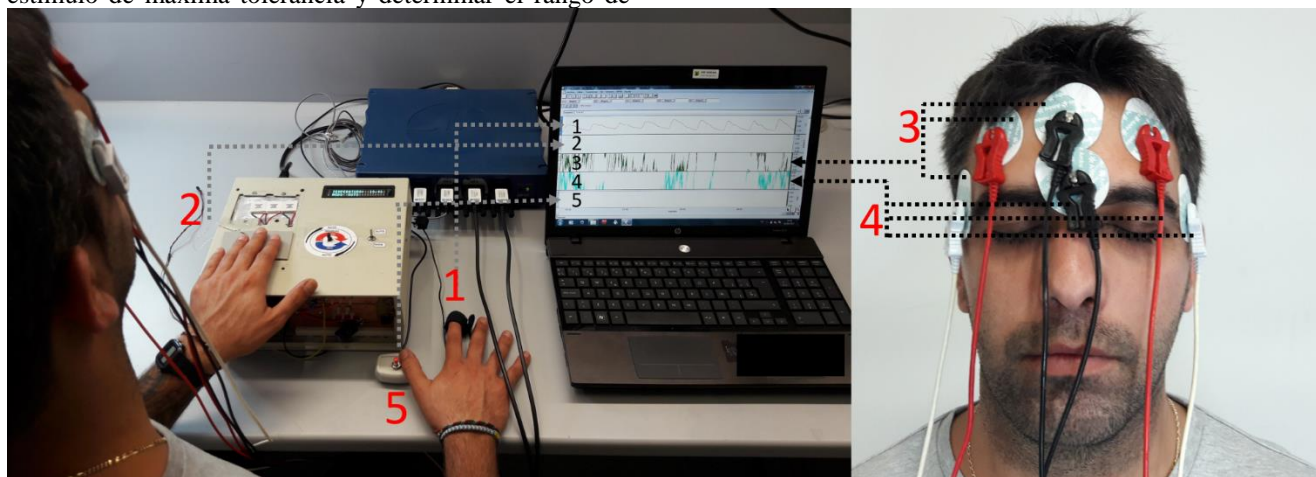


Figura 1. Sistema de captación y visualización de señales fisiológicas: El sensor PPG (1) es ajustado a la tercera falange de la mano derecha del sujeto, mientras la mano izquierda es colocada en la placa Peltier que gradual y controladamente incrementa su temperatura (2). Los electrodos para la detección de la señal EEG (3,4) se colocarán en ambos hemisferios de la frente. Por último, el botón que señala el punto cercano al umbral del dolor (5) es colocado para su activación por la mano derecha.

5. Discusión

Hasta ahora, se ha diseñado y desarrollado la plataforma que permite la monitorización y el análisis simultáneo y a tiempo real de las variables EEG, PPG y temperatura, que proporcionarán información más precisa sobre los patrones y umbrales del dolor en comparación con los métodos actualmente existentes, y tiene el potencial de revelar tendencias previamente no identificadas.

Las pautas futuras para esta línea de trabajo pasan por la recogida de muestras de registros fisiológicos de grupos de voluntarios de población sana y patológica, así como la incorporación de nuevas variables fisiológicas como la resistencia electro-dérmica (EDR) o resistencia galvánica de la piel (GSR). Ello hará posible un uso generalizado de

este tipo de registros y abrirá oportunidades para futuras investigaciones dirigidas a comprender el estado psicológico o neurológico de pacientes, basadas en el análisis de las respuestas fisiológicas.

Además, en un futuro, se pretenden utilizar diferentes métodos para analizar la interacción entre las señales de EEG y PPG. Una posibilidad es el modelado causal dinámico, abordando cómo la actividad del cerebro (EEG) interacciona con la actividad hemodinámica (PPG) al procesar estímulos dolorosos. Existen otros dos métodos que a partir de datos pueden calcular la interacción entre señales: la causalidad de Granger [6,7] y transferencia de entropía [8,9]. Así mismo, para calcular la interacción funcional entre las señales, también se pueden utilizar, por

ejemplo, el coeficiente de correlación lineal y el análisis de correlación parcial [10].

Las posibles aplicaciones clínicas susceptibles de ser analizadas mediante esta plataforma incluyen la detección de la fibrosis quística [11], la clasificación de las enfermedades depresivas [12], la predicción del resultado funcional en la esquizofrenia [13], la discriminación entre los pacientes sanos y psicóticos [14], la detección de la activación simpática en el autismo [15], el diagnóstico precoz de la neuropatía diabética [16], el suministro controlado y preciso de fármacos [17] y el diagnóstico precoz de enfermedades neurodegenerativas.

Además, la adquisición de datos simultáneos permite la monitorización y la intervención en tiempo real, que son útiles para la mejora de tratamientos en, por ejemplo, hiperhidrosis crónica [18], convulsiones epilépticas [19] y psicógenas no epilépticas [20], así como en el tratamiento del dolor crónico [21].

Agradecimientos

Por último, agradecer a D. Manuel Sánchez Moronta, por su contribución en la creación del aula de Bioelectrónica facilitando la colaboración entre Biocruces y la Escuela de Ingeniería de Bilbao, así como a D. Asier Erramuzpe por su asesoramiento y apoyo en el análisis de datos mediante Matlab.

Referencias

- [1] Bashan, A. et al. Network Physiology reveals relations between network topology and physiological function. *Nat. Commun.*, vol 3, 2012, p 702
- [2] Página web de Orcad. www.orcad.com (Consultada: Julio 2017).
- [3] Página web de Mathworks, en referencia a Matlab. <https://es.mathworks.com/products/matlab.html> (Consultada: Julio 2017).
- [4] Página web de Biopac. <http://www.biopac.com/> (Consultada: Julio 2017)
- [5] El BioPac es un sistema flexible y modular dedicado a recoger múltiples datos fisiológicos a tiempo real y que es utilizado tanto para fines educativos como para la investigación biomédica. Está construido sobre una base de amplificadores universales que pueden registrar una amplia gama de señales fisiológicas incluyendo entre otros las señales de electromiografía, electrocardiografía, electroencefalografía, monitorización del pulso y la respiración, respuesta electro-dérmica, etc. y actualmente, está considerado un estándar a seguir en la investigación de señales fisiológicas.
- [6] S. Stramaglia, L. Angelini, G. Wu, J.M. Cortes, L. Faes and D. Marinazzo. Synergetic and redundant information flow detected by unnormalized Granger causality: application to resting state fMRI. *IEEE Trans Biomed Engineering*, vol. 63, 2016, p 2518 – 2524 (ISSN: 0018-9294).
- [7] C. Alonso-Montes, I. Diez, L. Remaki, I. Escudero, B. Mateos, Y. Rosseel, D. Marianazzo, S. Stramaglia, and Jesus M Cortes. Lagged and instantaneous dynamical influences related to brain structural connectivity. *Frontiers in Psychology*, vol. 6, 2015, p 1024
- [8] A. Erramuzpe, G.J. Ortega, J. Pastor, R. G. de Sola, D. Marinazzo, S. Stramaglia and J.M. Cortes. Identification of redundant and synergetic circuits in triplets of electrophysiological data. *Journal of Neural Engineering*, vol. 12, 2015, p 066007
- [9] I. Diez*, A. Erramuzpe*, I. Escudero, B. Mateos, D. Marinazzo, A. Cabrera, E. Sanz-Arigita, S. Stramaglia and J.M. Cortes (*Equal Contribution). Information flow between resting state networks. *Brain connectivity*, vol. 5, 2015, pp 554-564
- [10] V. Maki-Marttunen*, I. Diez*, J.M. Cortes, D.R. Chialvo and M. Villarreal (*Equal first-author contribution). Disruption of transfer entropy and inter-hemispheric brain functional connectivity in patients with disorder of consciousness. *Frontiers in Neuroinformatics*, vol. 7, 2013, p 24
- [11] P. S. Williamson, D. C. Fowles, and M. Weinberger. Electrodermal potential and conductance measurements clinically discriminate between cystic fibrosis and control patients. *Pediatr. Res.*, vol 19, 1985, pp 810–814
- [12] A. M. Mirkin and A. Coppen. Electrodermal activity in depression: Clinical and biochemical correlates. *Brit. J. Psychiatry.*, vol 137, 1980, pp 93–97
- [13] A. M. Schell, M. E. Dawson, A. Rissling, J. Ventura, M. J. Gitlin, and K. H. Nuechterlein. Electrodermal predictors of functional outcome and negative symptoms in schizophrenia. *Psychophysiology*, vol 42, 2005, pp 483–492
- [14] M. P. Tarvainen, A. S. Koistinen, M. Valkonen-Korhonen, J. Partanen, and P. A. Karjalainen. Analysis of galvanic skin responses with principal components and clustering techniques. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol 48, 2001, pp 1071–1079
- [15] W. Hirstein, P. Iversen, and V. S. Ramachandran. Autonomic responses of autistic children to people and objects. *Proc. Biol. Sci.*, vol 268, 2001, pp 1883–1888
- [16] N. Dolu, C. Ozesmi, N. Comu, C. Suer, and A. Golgeli. Effect of hyperglycemia on electrodermal activity in diabetic rats. *Int. J. Neurosci.*, vol 116, 2006, pp 715–729
- [17] Lasse Paludan Malver, Anne Brokjær, Camilla Staahl, Carina Graversen, Trine Andresen and Asbjørn Mohr Drewes. Electroencephalography and analgesics. *Br J Clin Pharmacol.*, vol 77(1), 2014, pp 72–95
- [18] P. Duller and W. D. Gentry. Use of biofeedback in treating chronic hyperhidrosis: A preliminary report. *Brit. J. Dermatol.*, vol 103, 1980, pp 143– 146
- [19] Y. Nagai, L. H. Goldstein, P. B. Fenwick, and M. R. Trimble. Clinical efficacy of galvanic skin response biofeedback training in reducing seizures in adult epilepsy: A preliminary randomized controlled study. *Epilepsy Behav.*, vol 5, 2004, pp 216–223
- [20] N. Pop-Jordanova, T. Zorcec, and A. Demerdzieva. Electrodermal biofeedback in treating psychogenic nonepileptic seizures. *Prilozi.*, vol 26, 2005, pp 43–51
- [21] JA Turner and CR Chapman. Psychological interventions for chronic pain: a critical review. *Pain.*, vol 12, 1982, pp 1-21

Evaluación de la calidad de la cirugía y ergonomía del cirujano durante la anastomosis uretrovesical realizada con un portaagujas robotizado

J.A. Sánchez-Margallo¹, F.M. Sánchez-Margallo¹, A. Skiadopoulos², K. Gianikellis³

¹ Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España, fjasanchez_msanchez@ccmijesususon.com

² Center for Research in Human Movement Variability, University of Nebraska at Omaha, USA, askiadopoulos2@unomaha.edu

³ Grupo de Investigación BioÉrgon, Universidad de Extremadura, Cáceres, España, kgiannik@unex.es

Resumen

El uso de instrumental rígido durante cirugía laparoscópica, junto con el uso de puertos de entrada fijos en la cavidad abdominal, conllevan a una notable reducción en la libertad de movimientos y triangulación de los instrumentos quirúrgicos dentro del espacio quirúrgico de trabajo. Para poder afrontar algunos de estas limitaciones, se han desarrollado diferentes dispositivos con nuevas funcionalidades para la cirugía laparoscópica. En este trabajo presentamos la evaluación del desempeño quirúrgico y la ergonomía del cirujano en el uso del portaagujas robotizado DEX® durante la anastomosis uretrovesical en modelo porcino. Los resultados son comparados con los obtenidos con un portaagujas laparoscópico convencional. Para ello, se analizó la calidad del procedimiento quirúrgico y de la sutura intracorpórea, así como la calidad final de la anastomosis. La ergonomía del cirujano durante el procedimiento fue analizada mediante un sistema de tracking corporal basado en sensores inerciales y un test subjetivo para valorar la carga física y mental. Los resultados muestran un resultado quirúrgico final en la calidad de la anastomosis y un desempeño de las habilidades técnicas de los cirujanos similares a las obtenidas con el instrumental laparoscópico convencional. El uso del instrumento robotizado conduce a una postura más ergonómica del codo, comparada a la obtenida con el uso del instrumental convencional. Consideramos que el cirujano necesita de un periodo de formación y adaptación más completo con este nuevo dispositivo para poder mejorar la calidad del desempeño quirúrgico y reducir la carga de trabajo durante la cirugía.

1. Introducción

El uso de instrumental quirúrgico rígido y la posición fija de los puertos de entrada en la cavidad abdominal durante la cirugía laparoscópica conllevan a una limitación en el rango de movimientos posibles y una reducción en la triangulación del instrumental dentro del espacio quirúrgico de trabajo.

Para afrontar algunas de estas limitaciones técnicas, se han desarrollado nuevos dispositivos para el desempeño quirúrgico. Entre estas soluciones se encuentran los instrumentos robotizados, los cuales proporcionan actuadores flexibles y nuevas funcionalidades [1][2]. Estos dispositivos proporcionan un rango de movimientos más amplios y precisos dentro de la cavidad abdominal, aumentando así el número de maniobras posibles. Sin embargo, muchos de estos dispositivos están todavía en sus

fases iniciales de desarrollo y requieren, por tanto, de una validación exhaustiva previo uso en condiciones quirúrgicas reales. El objetivo principal del presente estudio es evaluar el desempeño quirúrgico y la ergonomía del cirujano en el uso del portaagujas robotizado DEX® (Dextérité Surgical, Francia) durante la anastomosis uretrovesical en modelo porcino. Los resultados serán comparados con los obtenidos con el uso de instrumental laparoscópico convencional

2. Material y métodos

2.1. Sujetos y tareas

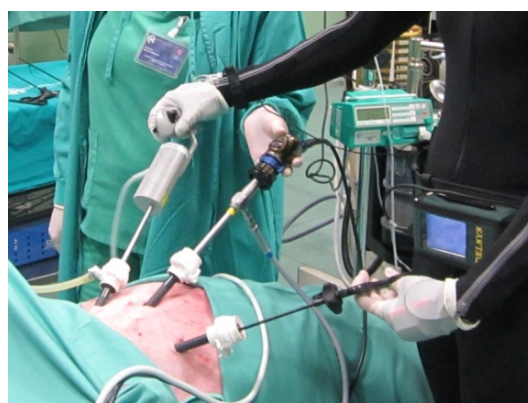


Figura 1. Procedimiento quirúrgico realizado con el portaagujas laparoscópico convencional (arriba) y con el dispositivo robotizado (abajo).

En el estudio participaron seis cirujanos expertos en cirugía laparoscópica y con experiencia en el uso del instrumental robotizado. Los participantes realizaron una anastomosis

uretrovesical con puntos simples en modelo porcino, haciendo uso tanto de un portaagujas convencional (Conv) como del portaagujas robotizado (Rob) (Figura 1). El uso de cada tipo de instrumental fue aleatorizado para cada participante. Cada procedimiento fue grabado para su posterior evaluación.

2.2. Instrumento robotizado DEX®

El sistema DEX® (Dextérité Surgical) es un portaagujas laparoscópico robotizado diseñado especialmente para tareas y procedimientos que impliquen suturas laparoscópicas. Este dispositivo dispone de un diseño ergonómico del mango de agarre y el manejo de la punta se lleva a cabo mediante los controles instalados en el mango. El sistema ofrece 7 grados de libertad, permitiendo articular su punta, así como su rotación ilimitada. El instrumental puede ser esterilizado mediante vapor.

2.3. Calidad del procedimiento quirúrgico

Un cirujano experto evaluó de forma ciega cada anastomosis realizada. La evaluación de la calidad en la realización del procedimiento se llevó a cabo mediante una escala de calificación global GOALS (Global Operative Assessment of Laparoscopic Skills) [3]. Esta escala se compone de 5 ítems evaluados con una puntuación del 1 al 5. Cada uno de los ítems evalúa aspectos relacionados con las habilidades quirúrgicas del cirujano durante la realización del procedimiento quirúrgico, tales como: (1) la percepción de la profundidad; (2) la destreza bimanual; (3) la eficiencia en los movimientos; (4) la delicadeza en el manejo de los tejidos; y (5) la autonomía en la ejecución del procedimiento.

2.4. Calidad de la sutura intracorpórea

Del mismo modo que en el caso anterior, un cirujano experto evaluó de forma ciega cada una de las suturas realizadas en cada anastomosis mediante un checklist específico para sutura intracorpórea y previamente validado [4]. Este checklist evalúa aspectos técnicos durante la realización de la sutura laparoscópica, tales como el posicionamiento de la aguja, el manejo de la aguja, la técnica en el anudado y la calidad final del nudo.

2.5. Test de fugas

Al final de cada procedimiento, se evaluó la calidad final de la anastomosis mediante un test de fugas. Para ello, mediante una sonda, se inyectó azul de metileno en la vejiga para analizar la permeabilidad de la anastomosis realizada.

2.6. Sistema inercial de tracking corporal

Durante el transcurso de cada procedimiento se registró la postura del cirujano mediante el sistema Xsens® MVN BIOMECH (Enschede, The Netherlands). Este sistema hace uso de sensores inerciales para seguir cada uno de los segmentos corporales del sujeto (Figura 2). Los datos registrados fueron almacenados como archivos .MVNX y posteriormente fueron procesados mediante el software Visual3D (C-motion, Inc., Germantown, MD, USA).



Figura 2. Registro de la postura del cirujano mediante el sistema de sensores inerciales Xsens® durante el transcurso del procedimiento quirúrgico.

2.7. Carga física y mental

La carga de trabajo se evaluó mediante el índice NASA-TLX [5]. Este índice utiliza una escala analógica visual de 20 puntos para medir la carga de trabajo a lo largo de 6 ítems: Exigencia mental, exigencia física, exigencia temporal, rendimiento, esfuerzo y frustración. La exigencia mental evalúa la actividad mental y perceptiva necesaria para completar la tarea, la exigencia física la actividad física necesaria, y la temporal el tiempo requerido. El rendimiento valora el grado de satisfacción respecto a la ejecución de la tarea. El esfuerzo evalúa el trabajo (mental y físico) necesario para llevar a cabo la tarea y la frustración el grado de inseguridad, irritación, tensión o preocupación durante la ejecución de la tarea. Esta evaluación se llevó a cabo solicitando a los sujetos que valorasen cada uno de estos ítems para cada procedimiento e instrumental quirúrgico utilizado.

2.8. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de los rangos con signo de Wilcoxon para comparar las mediciones de ambos grupos de estudio, el grupo con instrumental laparoscópico convencional (Conv) y el grupo con el dispositivo robotizado (Rob). Todos los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el software de análisis estadístico R versión 3.2.2 (R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria). Para todas las pruebas, $p < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo.

3. Resultados y discusión

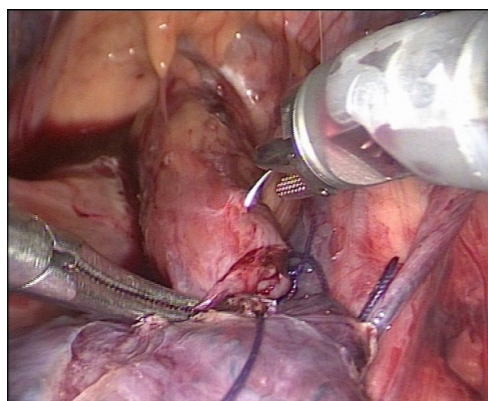


Figura 3. Anastomosis uretrovesical realizada con el portaagujas robotizado

Todas las intervenciones se llevaron a cabo de forma satisfactoria y sin complicaciones (Figura 3).

3.1. Calidad del procedimiento quirúrgico

En general, los cirujanos obtuvieron mejores resultados en la calidad del desempeño quirúrgico haciendo uso del portaagujas laparoscópico convencional. Estos resultados eran esperados debido principalmente a que los cirujanos presentan una mayor experiencia con el uso del instrumental laparoscópico convencional. Esto se puede ver también reflejado en los resultados significativamente superiores en cuanto a la independencia y fluidez en el uso de este instrumental (Figura 4).

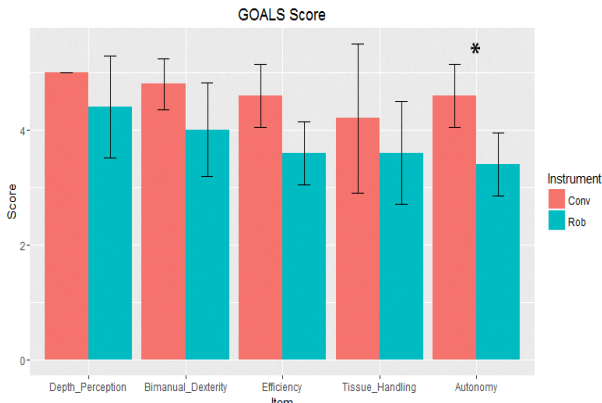


Figura 4. Resultados de cada ítem evaluado mediante la escala de calificación global GOALS.

3.2. Calidad de la sutura intracorpórea

La calidad en la realización de las suturas fue muy similar con ambos instrumentales laparoscópicos (Figura 5). En general, los cirujanos siguen correctamente los pasos necesarios para una adecuada realización de la sutura laparoscópica con ambos tipos de portaagujas. Sin embargo, la valoración respecto a la adecuada extracción de la aguja durante la ejecución del punto (ND2) fue significativamente superior con el portaagujas convencional, mostrando una reducción en el número de movimientos necesarios y una mayor tendencia a seguir la curvatura de la aguja durante su retirada (Figura 5).

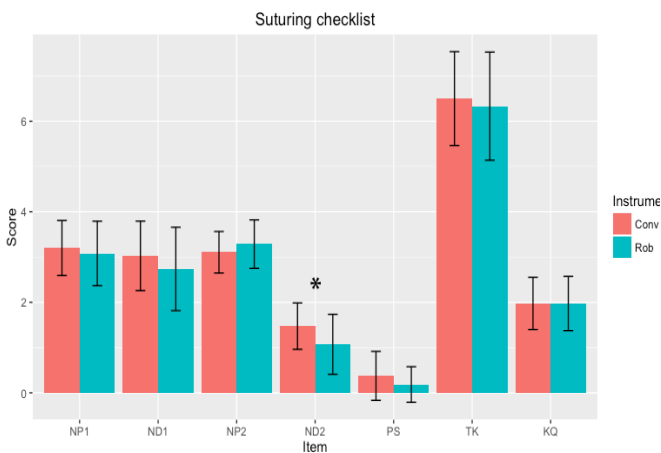


Figura 5. Parámetros del checklist de sutura intracorpórea. NP: Needle position; ND: Needle driving; PS: Pulling the suture; TK: Technique of knots; KQ: Knot quality. * $p < 0,05$.

3.3. Test de fugas

Todas las anastomosis fueron completadas con ocho puntos simples. Solo una anastomosis uretrovesical realizada con el dispositivo robotizado mostró fugas durante el test de evaluación de la calidad final de la anastomosis.

3.4. Sistema inercial de tracking corporal

El uso del sistema de seguimiento corporal basado en sensores inerciales muestra que este tipo de métodos pueden ser una alternativa para condiciones quirúrgicas reales, donde los métodos convencionales de seguimiento de movimiento no son factibles debido a posibles oclusiones.

Los resultados relativos al análisis de la postura del cirujano muestran que la rotación de la cabeza fue significativamente mayor con el uso del instrumental robotizado. Sin embargo, la variabilidad es mayor con el uso del portaagujas convencional. En ambos casos, este factor puede ser solventado en futuros procedimiento quirúrgicos, por medio de una adecuada colocación del monitor principal durante la cirugía, e incluso, si es necesario, utilizando monitores auxiliares. Por otro lado, los cirujanos mostraron una pronación del codo significativamente menor durante el uso del portaagujas robotizado (Figura 6), lo cual resulta en una postura ergonómicamente más adecuada y próxima a la postura neutra del cirujano [6].

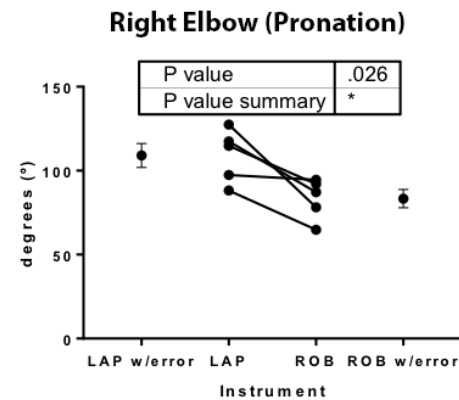
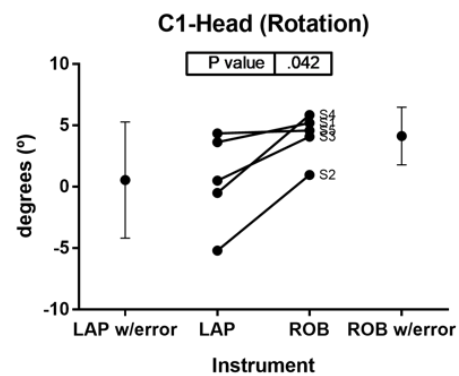


Figura 6. Posturas los cirujanos que muestran diferencias estadísticamente significativas respecto al uso del portaagujas laparoscópico convencional y robotizado.

3.5. Carga física y mental

Los cirujanos valoraron el nivel de satisfacción respecto al resultado quirúrgico final del procedimiento similar con el uso de ambos tipos de portaagujas laparoscópicas (Figura 7). Sin embargo, consideraron que el uso del nuevo instrumental conlleva a un aumento en la carga física y mental, así como en el posible grado de frustración durante el desarrollo del procedimiento. A pesar de que la postura del cirujano durante el procedimiento sea ergonómicamente más adecuada con el uso del nuevo instrumental laparoscópico, aspectos como las posturas estáticas durante tiempos prolongados y el incremento en el peso del instrumental pueden llevar a un aumento en la fatiga muscular del cirujano. Sería conveniente, como trabajo futuro, llevar a cabo un análisis objetivo y completo de la actividad muscular y fatiga durante el uso de este dispositivo. Para ello se pueden utilizar sistemas de electromiografía.

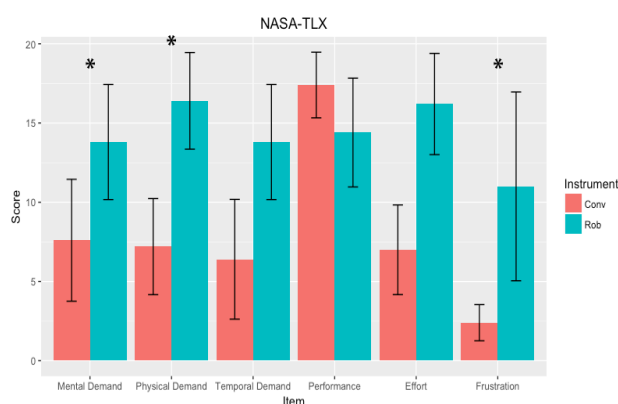


Figura 7. Resultados respecto a los ítems evaluados mediante el índice NASA-TLX para la carga de trabajo durante la anastomosis uretrovesical realizada con el portaagujas convencional y robotizado. * $p < 0,05$.

Los resultados muestran que las habilidades técnicas de los cirujanos en el desempeño de la sutura intracorpórea y el resultado quirúrgico final obtenido con el nuevo portaagujas robotizado son similares a las logradas con el instrumental laparoscópico convencional. El uso del nuevo dispositivo robotizado conlleva a una postura ergonómicamente más adecuada, excepto en el caso de la rotación de la cabeza. Consideramos que este aspecto puede ser corregido con una mejor adaptación de las condiciones ergonómicas del entorno quirúrgico previo a la cirugía y de forma personalizada para cada cirujano, incluyendo la posición y altura del monitor principal. Por otro lado, sería necesario un periodo de formación y adaptación más amplio y completo con este nuevo

dispositivo para poder alcanzar valores en la calidad del desempeño quirúrgico y de carga de trabajo del cirujano más próximas a las ofrecidas actualmente mediante el uso del instrumental laparoscópico convencional.

4. Conclusiones

El uso del portaagujas robotizado ofrece un resultado de la calidad final de la anastomosis y del desempeño quirúrgico del cirujano similar al uso del instrumental laparoscópico convencional. El cirujano presenta una postura ergonómicamente más adecuada con el uso del nuevo instrumental, aunque se deben realizar estudios futuros para evaluar de forma objetiva la influencia del uso de este dispositivo en la actividad muscular del cirujano. Consideramos que el cirujano necesita de un periodo de formación y adaptación más completo con este nuevo instrumental laparoscópico para poder aprovechar todo su potencial y mejorar la fluidez en su uso durante procedimientos complejos como la anastomosis uretrovesical.

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer a los cirujanos participantes en este estudio por su colaboración.

Referencias

- [1] Sánchez-Margallo FM, Sánchez-Margallo JA (2016) Analysis of Surgeons' Muscle Activity During the Use of a Handheld Robotic Instrument in Laparoendoscopic Single-Site Surgery. In: Duffy V, Lightner N (eds) Advances in Human Factors and Ergonomics in Healthcare. Springer, pp 3–15
- [2] Zapardiel I, Hernandez A, De Santiago J (2015) The efficacy of robotic driven handheld instruments for the acquisition of basic laparoscopic suturing skills. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 186:106–109.
- [3] Vassiliou MC, Feldman LS, Andrew CG, Bergman S, Leffondré K, Stanbridge D, et al. (2005) A global assessment tool for evaluation of intraoperative laparoscopic skills. Am J Surg 190:107–13.
- [4] Kroeze SGC, Mayer EK, Chopra S, Aggarwal R, Darzi A, Patel A (2009) Assessment of laparoscopic suturing skills of urology residents: a pan-European study. Eur Urol 56:865–72.
- [5] Koca D, Y ld z S, Soyupek F, Gunyeli I, Erdemoglu E, Soyupek S, et al. Physical and Mental Workload in Single-Incision Laparoscopic Surgery and Conventional Laparoscopy. Surgical Innovation 2015;22(3):294–302.
- [6] Matern U. Ergonomic deficiencies in the operating room: examples from minimally invasive surgery. Work. 2009; 32: 1–4.

Sesión Pósters 1

Miércoles, 29 de Noviembre

Reducción del Ruido de Red en Electrogramas Auriculares Mediante Transformada Wavelet Estacionaria

M. Martínez Iniesta¹, J. Ródenas García¹, R. Alcaraz Martínez¹, J.J. Rieta Ibáñez²

¹ Grupo de Investigación en Electrónica, Telecomunicación y Bioingeniería, Universidad de Castilla-La Mancha, España, {miguel.martinez, juan.rodenas, raul.alcaraz}@uclm.es

² BioMIT.org, Dept. de Ingeniería Electrónica, Universitat Politècnica de Valencia, España, jjrieta@upv.es

Resumen

El análisis de la actividad eléctrica auricular se considera actualmente clave para mejorar el conocimiento acerca de los mecanismos de activación y mantenimiento de las arritmias auriculares, como por ejemplo la fibrilación auricular (FA). Los electrogramas intraauriculares (EGM) proporcionan información esencial para poder desarrollar en los pacientes el tratamiento más extendido de la FA, como es la ablación por catéter. No obstante el laboratorio de electrofisiología es un entorno donde coexisten gran número de equipos electrónicos, presentando por tanto un ambiente muy adverso en el que diversas señales de ruido pueden añadirse a los EGMs en la etapa de registro. Entre estas señales de ruido destaca la interferencia provocada por la red eléctrica. Con el objetivo de reducir este ruido ya que su contenido se solapa con el correspondiente a la actividad auricular pero, al mismo tiempo, preservar la morfología original del EGM, se propone un nuevo algoritmo basado en la transformada wavelet estacionaria (TWE). Para validar el método se han sintetizado 150 señales EGMs unipolares de 10 segundos de duración con diferentes niveles de ruido. Además, se han comparado las señales originales y las filtradas mediante un índice de correlación de signo adaptativo (ICSA), calculado tanto en el dominio del tiempo como en el de la frecuencia. Los resultados muestran mejoras entre el 9% y el 19% con respecto a los obtenidos mediante un filtro notch convencional, utilizado como referencia al ser el que incluyen la práctica totalidad de los equipos de registro. Como consecuencia, el algoritmo que se propone podría facilitar análisis más fiables y veraces de los EGMs auriculares.

1. Introducción

El electrograma extracelular, registrado directamente en el corazón, es un elemento básico de la electrofisiología invasiva cardíaca y proporciona información sobre el estado eléctrico del miocardio [1]. Esta señal se genera por la despolarización de los cardiomiocitos, que provocan corrientes transmembrana en el espacio extracelular así como diferencias de potencial debido a la resistencia eléctrica del medio extracelular [1]. En contraste con un miocardio sano donde la forma del EGM es sencilla, en condiciones patológicas este registro contiene múltiples componentes de larga duración, que se han atribuido a conducción anormal y arritmogénesis [2]. Por lo tanto, el análisis del EGM desempeña un papel clave en la mejora de los conocimientos actuales sobre los mecanismos de activación y mantenimiento de las arritmias auriculares, tales como la fibrilación auricular (FA) [3].

De hecho, aunque la FA es la arritmia más común en la práctica clínica y afecta, aproximadamente, al 2% de la población adulta, los mecanismos fisiopatológicos que la desencadenan y la mantienen no son totalmente conocidos [4, 5]. Esto hace que su diagnóstico y tratamiento sean altamente complejos y poco eficaces [4] y, por lo tanto, se requieren más esfuerzos para mejorar la gestión de la FA [6]. A este respecto, la ablación por catéter, terapia prioritaria para esta enfermedad, sigue proporcionando tasas de éxito bajas a largo plazo y muchos expertos reclaman la necesidad de un procesamiento e interpretación más avanzados de los EGMs adquiridos durante el procedimiento, para determinar con mayor precisión las regiones auriculares que deben ser tratadas [7].

Sin embargo, el registro de los EGMs se caracteriza a menudo por una baja amplitud y estar contaminado por interferencias considerables, ya que se adquiere en presencia de numerosas fuentes de ruido eléctrico [8]. Por lo tanto, para desarrollar un análisis aún más preciso y fiable, el preprocesado de la señal es un paso esencial [9]. En este contexto, la interferencia de la red eléctrica debería recibir una atención especial, ya que se encuentra dentro del ancho de banda del EGM y, por lo tanto, su eliminación es difícil de realizar [10]. A pesar de esto, los sistemas de registro comerciales, incorporan a menudo filtros notch sencillos y de bajo orden que eliminan importantes componentes cardíacos locales junto con la señal de ruido [9]. En este trabajo se propone un algoritmo basado en la transformada wavelet estacionaria (TWE) para reducir la interferencia de la red eléctrica y al mismo tiempo preservar la morfología del EGM original.

2. Método

2.1. Base de datos

El algoritmo propuesto se validó haciendo uso de un conjunto de EGMs unipolares sintéticos. El uso de estas señales permite cuantificar con precisión la reducción de ruido obtenida, y cómo se preserva la integridad de la forma de onda original. Siguiendo un enfoque similar al presentado por Oesterlin et al. [11] se sintetizaron 150 registros con una duración de 10 segundos. Posteriormente se generaron señales senoidales centradas en 50 Hz, inclu-

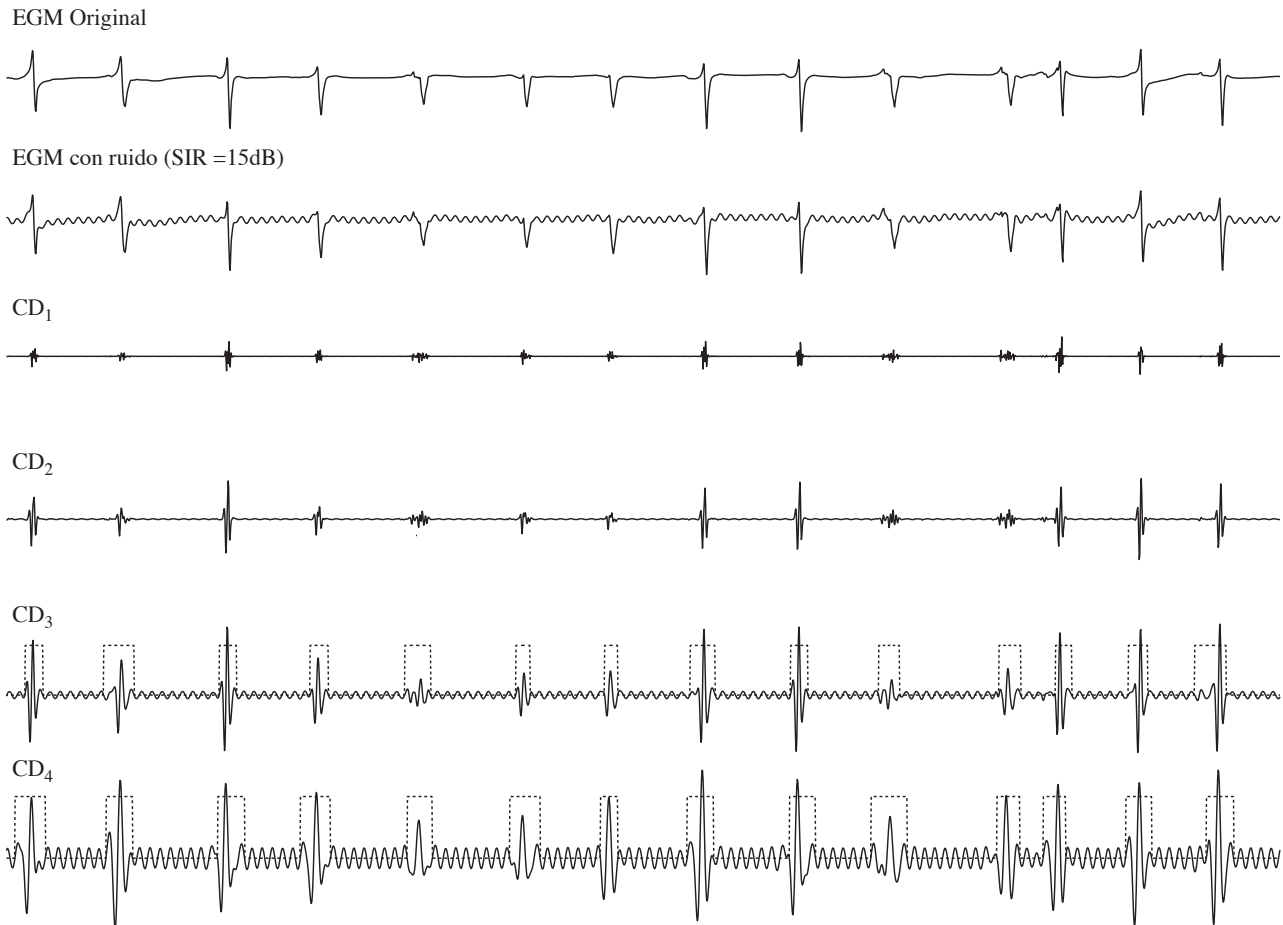


Figura 1. Resumen gráfico del funcionamiento del algoritmo propuesto, basado en TWE. Para eliminar la interferencia de la red eléctrica, se detectan y enventanan las activaciones auriculares en las escalas 3 (CD_3) y 4 (CD_4).

yendo dos armónicos, que fueron modulados levemente, tanto en amplitud como en frecuencia, de forma aleatoria. Finalmente se combinaron ambas señales para conseguir registros con relaciones decrecientes señal a interferencia (SIR) de 25, 20, 15, 10 y 5 dB.

2.2. Algoritmo de reducción de ruido basado en TWE

Se ha demostrado que la transformada wavelet (TW) es una herramienta útil para la eliminación de ruido en gran variedad de señales fisiológicas, ya que es capaz de manejar con éxito transitorios, aperiodicidades y otros componentes no estacionarios [12]. Brevemente, esta herramienta descompone una señal en diferentes escalas, enfatizando sus principales características de tiempo y frecuencia [12]. Una variante interesante de la TW clásica es su versión estacionaria, es decir la TWE que es invariante en el tiempo [13]. Más concretamente, cada escala o coeficiente de detalle (CD) se obtiene a través de un banco de filtros paso bajo y paso alto, de respuesta finita al impulso, sin etapas de diezmado. Por lo tanto, cada CD presenta la misma longitud que la señal original.

Mediante esta herramienta, el EGM se descompuso en cuatro niveles utilizando una función Coiflet de segundo orden como wavelet madre. Dado que la interferencia de la red eléctrica se concentra principalmente en las escalas 3 y 4 (las cuales cubren un rango de frecuencias entre 31 y

62 Hz, aproximadamente), las activaciones auriculares en estas señales se detectaron y enventaron para preservar su morfología. De esta forma, se eliminó el ruido fuera de las ventanas establecidas y se reconstruyó la señal limpia mediante la TW inversa. La Figura 1 muestra gráficamente un resumen de esta metodología.

2.3. Evaluación de la reducción de ruido

Para comparar el algoritmo propuesto, también se ha replicado un filtro notch similar al incorporado en muchos sistemas de registro comerciales. Concretamente se ha diseñado usando un filtro digital bidireccional Butterworth de tercer orden con un ancho de banda de 2 Hz centrado en la frecuencia de 50 Hz. Para cuantificar la reducción de ruido y además cómo la morfología en la señal resultante es preservada se ha utilizado el índice de correlación de signo adaptativo (ICSA), calculado tanto en el dominio del tiempo como en el de la frecuencia. Se utilizó este índice en lugar del coeficiente de correlación de Pearson, ya que toma en consideración las diferencias de amplitud entre las dos señales comparadas. Desde un punto de vista matemático, denominando $x(n)$ al EGM original libre de ruido y $\hat{x}(n)$ al registro filtrado, el ICSA se calcula como:

$$\text{ICSA} [x(n), \hat{x}(n)] = \frac{1}{L} \sum_{k=1}^L x(k) \otimes \hat{x}(k), \quad (1)$$

Método	ICSA (%)	SIR (dB)				
		25	20	15	10	5
Filtrado TWE	Tiempo	94.0 ± 1.6	93.6 ± 1.5	92.4 ± 1.6	89.6 ± 1.7	85.9 ± 2.5
	Frecuencia	99.5 ± 0.3	99.4 ± 0.3	99.3 ± 0.3	99.0 ± 0.4	98.5 ± 0.5
Filtro notch	Tiempo	78.9 ± 4.0	78.9 ± 4.0	78.9 ± 4.0	78.9 ± 4.0	78.8 ± 4.0
	Frecuencia	96.3 ± 0.6	96.4 ± 0.6	96.4 ± 0.6	96.4 ± 0.6	96.4 ± 0.6

Tabla 1. Valores medios de ICSA obtenidos para el algoritmo de reducción de ruido propuesto basado en TWE y el filtrado notch, en los dominios de tiempo y de frecuencia.

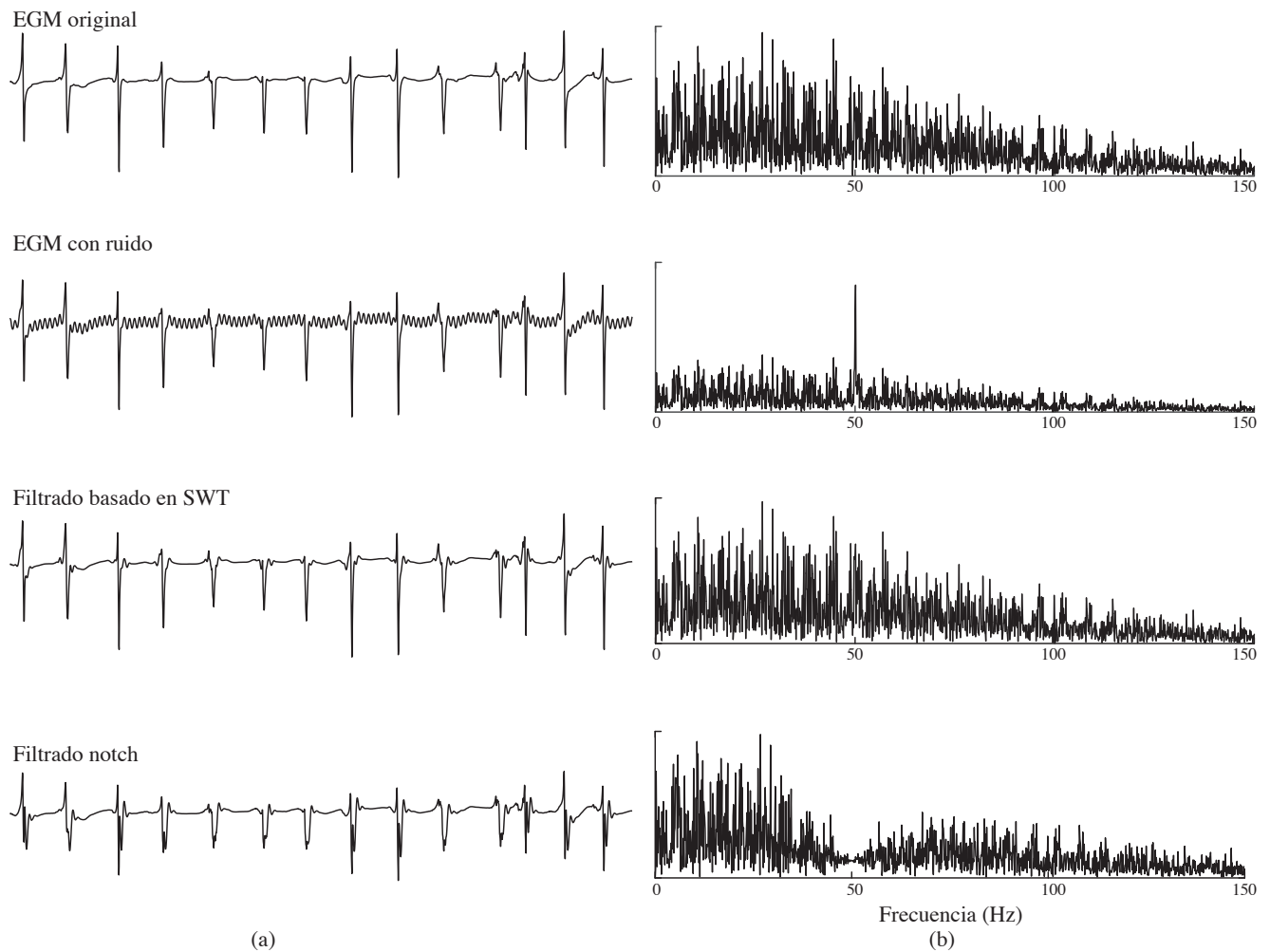


Figura 2. Ejemplo típico de las señales de EGM resultantes de los dos métodos de filtrado analizados, tanto en el dominio del tiempo (a) como de la frecuencia (b), considerando una SIR de 15 dB.

donde L es el número de muestras tanto para $x(n)$ como para $\hat{x}(n)$ y el operador \otimes se define como

$$x(n) \otimes \hat{x}(n) = \begin{cases} 1 & \text{si } |x(n) - \hat{x}(n)| \leq \xi, \\ -1 & \text{si } |x(n) - \hat{x}(n)| > \xi. \end{cases} \quad (2)$$

El umbral ξ se ajustó experimentalmente al 5% de la desviación estándar de $x(n)$.

3. Resultados

La Tabla 1 resume los valores medios de ICSA obtenidos para el algoritmo de reducción de ruido propuesto y

el filtrado notch, en los dominios de tiempo y de frecuencia. Como puede observarse, mientras que el filtrado notch proporciona valores de ICSA similares independientemente del nivel de ruido, con el método basado en TWE se obtuvieron formas de onda en tiempo y frecuencia que se deterioraron ligeramente a medida que disminuía la SIR. No obstante, el algoritmo propuesto siempre proporcionó EGMs notablemente más limpios y con valores del índice ICSA mejores, sugiriendo una morfología más parecida a la señal original que el filtrado de referencia. Concretamente, con el algoritmo basado en TWE se obtuvieron mejoras, en el dominio del tiempo, comprendidas entre el 9% y el

19 %, con respecto a los resultados proporcionados por el filtro notch. Como ejemplo gráfico, la Figura 2 muestra las señales resultantes de ambos métodos de reducción de ruido en los dominios de tiempo y frecuencia, con una SIR de 15 dB. Se puede apreciar claramente la presencia del un tono de 50 Hz en el espectro del EGM contaminado con ruido de red y cómo esta interferencia desaparece de forma menos agresiva en el método basado en TWE que en el filtrado notch, en el que se elimina una porción mayor de componentes espectrales de la señal original (Figura 2.b). De igual forma, se puede comprobar que en el dominio temporal ha desaparecido la ondulación correspondiente al ruido de red, y que el método basado en TWE reproduce la señal original con una distorsión menor que el obtenido con el filtrado de referencia (Figura 2.a).

4. Discusión y conclusiones

El preprocesado del EGM juega un papel clave para conseguir estudios electrofisiológicos más precisos y confiables. Sin embargo, este aspecto no ha recibido mucha atención en la literatura. De hecho, en los sistemas de registro comerciales se utiliza de forma generalizada un filtro notch simple para reducir la interferencia de la red eléctrica en el proceso de registro de los EGMs, aunque modifica notablemente la morfología de la señal, tanto en el tiempo como en la frecuencia, tal y como han demostrado los resultados presentados. Por otra parte, cabe destacar que este filtrado provoca una alteración similar en el tratamiento de los EGMs independientemente del nivel de ruido presente, perturbando completamente incluso aquellas señales con una interferencia muy limitada. De esta manera, la información clínicamente útil podría deteriorarse y, como consecuencia de esto, la conexión entre la morfología del EGM y los mecanismos electrofisiológicos subyacentes a la FA podría difuminarse.

Por el contrario, el algoritmo propuesto, basado en TWE ha proporcionado una capacidad prometedora para reducir la interferencia de la red eléctrica, incluso para valores muy bajos de SIR de 5 y 10 dB. Por otra parte, como muestra la Figura 2, también preserva mejor la morfología del EGM tanto en el dominio del tiempo como en el de la frecuencia. Otra característica interesante de este método es su simplicidad, de modo que puede ser fácilmente incorporado en sistemas de registro comerciales. Sin embargo, el algoritmo requiere la detección de activaciones auriculares en las escalas 3 y 4, que no siempre es sencillo para EGMs complejos y fragmentados [14]. En consecuencia, en el futuro se desarrollarán experimentos adicionales centrados en este tipo de registros.

Agradecimientos

Trabajo financiado por los proyectos TEC2014-52250-R y DPI2017-83952-C3 MINECO/AEI/FEDER, UE.

Referencias

- [1] de Bakker JMT, Wittkampf FHM. The pathophysiologic basis of fractionated and complex electrograms and the impact of recording techniques on their detection and interpretation. *Circ Arrhythm Electrophysiol* Apr 2010;3(2):204-13.
- [2] Issa ZF, Miller JW, Zipes DP. Clinical arrhythmology and electrophysiology: a comparison to Braunwald's heart disease. (Chapter 4). 2nd edition. Elsevier, 2012.
- [3] Heijman J, Algalarrondo V, Voigt N, Melka J, Wehrens XHT, Dobrev D, Nattel S. The value of basic research insights into atrial fibrillation mechanisms as a guide to therapeutic innovation: a critical analysis. *Cardiovasc Res* Apr 2016;109(4):467-79.
- [4] Schnabel RB, Yin X, Gona P, Larson MG, Beiser AS, McManus DD, Newton-Cheh C, Lubitz SA, Magnani JW, Ellinor PT, Seshadri S, Wolf PA, Vasani RS, Benjamin EJ, Levy D. 50 year trends in atrial fibrillation prevalence, incidence, risk factors, and mortality in the Framingham Heart Study: a cohort study. *Lancet* Jul 2015;386(9989):154-62.
- [5] Schotten U, Dobrev D, Platonov PG, Kottkamp H, Hindricks G. Current controversies in determining the main mechanisms of atrial fibrillation. *J Intern Med* May 2016; 279(5):428-38.
- [6] Van Wagoner DR, Piccini JP, Albert CM, Anderson ME, Benjamin EJ, et al. Progress toward the prevention and treatment of atrial fibrillation: A summary of the Heart Rhythm Society Research Forum on the Treatment and Prevention of Atrial Fibrillation, Washington, DC, December 9-10, 2013. *Heart Rhythm* Jan 2015;12(1):e5-e29.
- [7] Latchamsetty R, Morady F. Atrial fibrillation ablation. *Annu Rev Med* Aug 2017;.
- [8] Venkatachalam KL, Herbrandson JE, Asirvatham SJ. Signals and signal processing for the electrophysiologist. Part I: electrogram acquisition. *Circ Arrhythm Electrophysiol* Dec 2011;4(6):965-73.
- [9] Venkatachalam KL, Herbrandson JE, Asirvatham SJ. Signals and signal processing for the electrophysiologist. Part II: signal processing and artifact. *Circ Arrhythm Electrophysiol* Dec 2011;4(6):974-81.
- [10] Jadidi A, Lehrmann H, Weber R, Park C, Arentz T. Optimizing signal acquisition and recording in an electrophysiology laboratory. *Cardiac Electrophysiology Clinics* 2013; 5:137-142.
- [11] Oesterlein TG, Lenis G, Rudolph DT, Luik A, Verma B, Schmitt C, Dössel O. Removing ventricular far-field signals in intracardiac electrograms during stable atrial tachycardia using the periodic component analysis. *J Electrocardiol* 2015;48(2):171-80.
- [12] Addison PS. Wavelet transforms and the ECG: a review. *Physiol Meas* Oct 2005;26(5):R155-99.
- [13] Lieb F, Stark HG, Thielemann C. A stationary wavelet transform and a time-frequency based spike detection algorithm for extracellular recorded data. *J Neural Eng* Jun 2017;14(3):036013.
- [14] Ng J, Sehgal V, Ng JK, Gordon D, Goldberger JJ. Iterative method to detect atrial activations and measure cycle length from electrograms during atrial fibrillation. *IEEE Trans Biomed Eng* Feb 2014;61(2):273-8.

Desarrollo de una placa de osteosíntesis personalizada como técnica de fijación y posicionamiento simultáneo del maxilar superior en osteotomías tipo Lefort I en cirugía ortognática

M. Baltasar¹, J. Acero², I. Oropesa^{1,3}, E.J. Gómez^{1,3,4}, P. Sánchez-González^{1,3,4}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España, {ioropesa, egomez, psanchez}@gbt.tfo.upm.es

² Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial, Hospital Ramón y Cajal, Madrid, España, cmaxilo.hrc@salud.madrid.org

³ Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España

⁴ Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, España

Resumen

En este estudio se desarrolla una técnica de posicionamiento y fijación para osteotomías tipo Lefort I en cirugía ortognática. En concreto, se lleva a cabo una prueba de concepto de diseño de una placa de osteosíntesis multifunción customizada. Inicialmente se han analizado parámetros influyentes en la morfología y situación de la placa, según lo cual se ha diseñado la placa. Este diseño se ha validado mediante la impresión 3D de prototipos plásticos y ha sido validado por un cirujano maxilofacial especialista en cirugía ortognática. El resultado del diseño CAD (Computer-Aided Design) de la placa de osteosíntesis ha sido exitoso y se ha completado en un tiempo aceptable para una cirugía electiva. Gracias a las características de la placa se prevé que aumente la precisión del procedimiento y que, por tanto, se obtengan mejores resultados clínicos.

1. Introducción

La cirugía ortognática es un procedimiento quirúrgico cuya finalidad es el reposicionamiento esquelético para lograr la corrección de las deformidades de forma, tamaño y posición de los huesos maxilares. La intervención consiste en la realización de osteotomías en los huesos maxilares para su posterior posicionamiento y fijación con placas de osteosíntesis [1,2]. Mediante una planificación virtual prequirúrgica se confirma el diagnóstico y se predice qué movimientos será necesario efectuar para corregir la deformidad, tanto estética como funcionalmente [3,4]. Para transferir la información planificada a la realidad quirúrgica se utilizan férulas quirúrgicas (*splints*) diseñadas y fabricadas mediante tecnología CAD/CAM (*Computer-Aided Design/Computer-Aided Manufacturing*). Tienen referencia oclusal, ya que se unen a las arcadas maxilar y mandibular mediante las huellas dentales que tienen impresas en su superficie. En una superficie estas marcas se corresponden con el arco dental original del paciente, usado

como referencia, mientras que en la otra superficie se encuentran las marcas dentales de la otra arcada ya movilizada según la planificación virtual, por lo que durante la intervención se traslada y rota el fragmento óseo osteotomizado para que encaje en estas marcas [4,6].

El cirujano maxilofacial debe hacer frente a unas complejas estructuras anatómicas y a un alto nivel de exigencias estéticas por parte del paciente, por lo que una rigurosa planificación es tan importante o más que la cirugía, ya que el resultado estético y funcional va a depender de ello [4,5]. Sin embargo, el problema sigue estando en la capacidad de transferir con exactitud la planificación virtual de las osteotomías y movimientos óseos a la realidad quirúrgica. Tanto las férulas quirúrgicas usadas en la actualidad como otros sistemas de posicionamiento alternativos (Polley y Figueroa o Sang-Hoon et al.) [7,8] están referenciados a la oclusión, lo que implica ciertas limitaciones y desventajas, ya que el éxito de la intervención depende de una correcta colocación del sistema de posicionamiento. Hay varios factores que implican grandes errores en este aspecto, como la variación de las posiciones dentales desde la fabricación de la férula hasta la cirugía (dado que el uso de ortodoncia está indicado en el tratamiento), pérdidas dentales o agenesias que complican el posicionamiento de la férula y, de mayor importancia, la posible transferencia de errores entre maxilares, tanto por el movimiento articular de la mandíbula como por un posicionamiento del maxilar erróneo. Por otro lado, este método de posicionamiento causa una pérdida de tiempo intraoperatorio, que se traduce en mayor riesgo de infección y tiempo de anestesia. Esto se debe a la necesidad de tomar medidas intraoperatorias en la dimensión vertical (la férula solo transfiere la información planificada en las dimensiones lateral y anteroposterior) y la necesidad de preformar las placas de osteosíntesis

manualmente durante la intervención, lo que adicionalmente reduce su resistencia mecánica. Adicionalmente es necesario utilizar fijación intermaxilar para atornillar las placas, lo que evita poder comprobar que la oclusión final es correcta hasta que se ha realizado la osteosíntesis, complicando así cualquier rectificación que haya que realizar.

Dadas las limitaciones y desventajas que implica el uso de un método de posicionamiento referenciado a la oclusión, en este trabajo de investigación se persigue el diseño y fabricación con tecnología CAD/CAM de un nuevo método de posicionamiento con referencia no oclusal y personalizado para el paciente que permita desechar las férulas convencionales. En este caso, el posicionamiento se lleva a cabo mediante el uso de una guía de corte y una placa de osteosíntesis personalizadas a la superficie ósea del paciente que comparten agujeros de brocado, de tal manera que el posicionamiento se realice simultáneamente con la osteosíntesis. Su finalidad será la de mejorar las limitaciones del método actual en términos de tiempo quirúrgico, probabilidad de infección, uso de anestesia, precisión del procedimiento y éxito del resultado.

2. Materiales y métodos

El proceso completo que implica el diseño y la fabricación CAD/CAM del sistema de posicionamiento se refleja en la Figura 1.

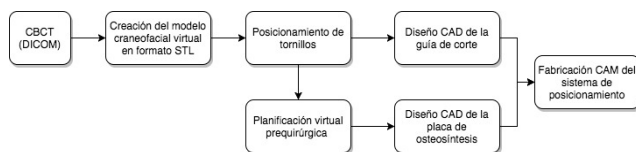


Figura 1. Proceso de diseño y fabricación CAD/CAM del sistema de fijación y posicionamiento.

Este estudio se ha centrado en el diseño CAD de la placa de osteosíntesis. Los materiales involucrados en esta fase comprenden el modelo tridimensional craneofacial virtual postquirúrgico en formato STL del paciente, utilizado de base para el diseño de la placa, que se desarrolla con el software de diseño CAD Blender [9]. Para la impresión de los prototipos plásticos necesarios para la validación se emplea una impresora 3D Prusa i3.

Inicialmente se lleva a cabo la simplificación del modelo craneofacial virtual del paciente para eliminar las zonas óseas irrelevantes para el estudio y, por tanto, reducir el tamaño del archivo y el tiempo de procesamiento. Posteriormente se han analizado parámetros influyentes en el diseño. Por un lado se lleva a cabo la localización de zonas de buena calidad ósea, lo que determina las posiciones más propicias en las que situar los tornillos para conseguir una fijación de la placa lo más estable posible. Para que la osteosíntesis sea exitosa: (1) los tornillos deben perforar el hueso en su parte más gruesa; (2) lo deben hacer en dirección perpendicular a su superficie y (3) se deben evitar zonas sensibles. Tomando estos parámetros como base se crea un complemento para Blender (add-on) implementado en Python 3.5.2 que calcula para cada cara

del modelo craneofacial en formato STL el grosor en la dirección normal. La representación de la información se lleva a cabo en forma de mapa de colores. A continuación se lleva a cabo la localización de zonas con gran variabilidad de la superficie ósea. Se analiza cómo varía la curvatura de la superficie ósea de las zonas de interés para definir la situación espacial de la placa en función de esto. Interesa que las barras que conectan los tornillos de la placa (y de la guía quirúrgica) pasen por las zonas con mayor variabilidad de curvatura para asegurar una colocación lo más exacta posible [10,11].

En base a los resultados de estos análisis se ha procedido a la colocación de los tornillos y, a continuación, al diseño CAD de la placa en una sola pieza. El proceso de diseño se ha basado en la división de la estructura de la placa en dos elementos: la zona de inserción del tornillo (tuercas) y sus uniones (barras).

3. Resultados

3.1. Análisis del grosor óseo en dirección de brocado ideal

Con el objetivo de obtener resultados concluyentes en el análisis de grosor óseo en dirección perpendicular a la superficie ósea ha sido necesario aumentar el detalle con el que se representa la información. Para ello, se ha analizado el rango de valores de grosor óseo para determinar qué grosores pueden ser excluidos sin afectar a las zonas de interés. A raíz de esto se ha acotado el mapa de color a los valores de interés y se ha vuelto a realizar el análisis del grosor para diferentes acotaciones. Dados los resultados obtenidos se ha determinado que el fragmento óseo por encima de la línea de osteotomía tipo Lefort I de este paciente se debe acotar a 5 mm, mientras que el fragmento óseo inferior se debe acotar a 15 mm (fig.2).

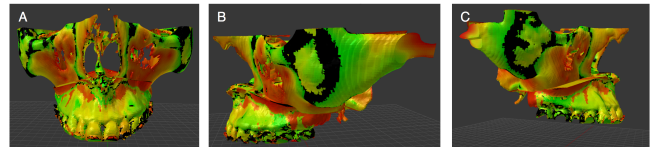


Figura 2. Modelo craneofacial virtual sobre el que se diseña la placa posteriormente. Mapa de color correspondiente con el grosor óseo en dirección de brocado. A) Vista de frente. B) y C) Vistas de perfil.

3.2. Análisis de la variabilidad de la curvatura de la superficie ósea

Se ha aplicado el add-on “Curvature to vertex colors” al modelo craneofacial para diferenciar con un mapa de color las concavidades y convexidades. Este análisis se realiza al instante y ha permitido definir con más claridad las raíces dentales a evitar (fig.3).

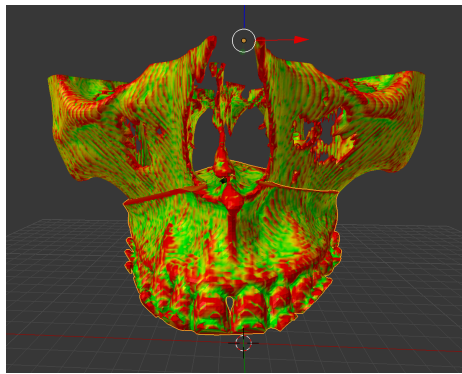


Figura 3. P Mapa de color resultante de aplicar el add-on "Curvature to vertex colors". Se muestran en rojo las convexidades y en verde las concavidades.

3.3. Diseño CAD de la placa de osteosíntesis

Inicialmente se ha llevado a cabo el posicionamiento de los tornillos según el mapa de color resultante del análisis de grosor óseo. Posteriormente ha sido necesario recolocar su posición según el mapa de color resultante del análisis de la curvatura de la superficie ósea, ya que ha permitido diferenciar las raíces dentales con mayor facilidad y son zonas sensibles que se deben evitar, por lo que se han ajustado las posiciones iniciales de brocado.

A continuación se han unido las tuercas por los vértices para formar las barras, que han sido editadas para evitar zonas puntiagudas. El resultado de la unión de las tuercas en cada hemimaxilar se refleja en la figura 4.

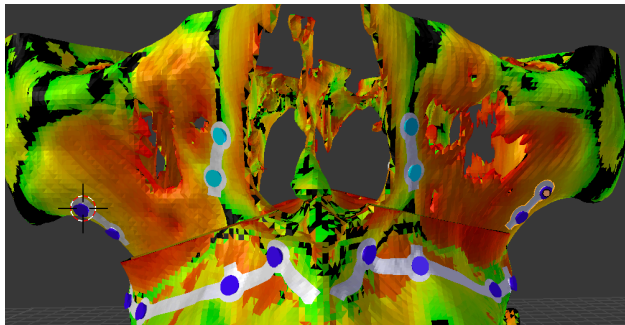


Figura 4. Resultado de la unión de las tuercas de cada hemimaxilar.

Tras la conexión de las placas de los hemimaxilares inferiores por la espina nasal se ha llevado a cabo la unión de las placas en un único elemento. Finalmente se ha añadido un perfil de 0.6 mm al elemento. Para completar el diseño de la placa se han empleado aproximadamente 3 horas y 30 minutos.

3.4. Validación del diseño

La morfología y situación de la placa ha sido validada por un cirujano maxilofacial especialista en cirugía ortognática del Servicio de Cirugía Oral y Maxilofacial del Hospital Universitario Ramón y Cajal. La adaptación a la superficie ósea se ha validado mediante la impresión 3D de prototipos plásticos de la placa de osteosíntesis y del modelo craneofacial, resultando en un ajuste correcto entre ambos.

Así se determina que la referencia no oclusal es válida para el posicionamiento (fig.5).

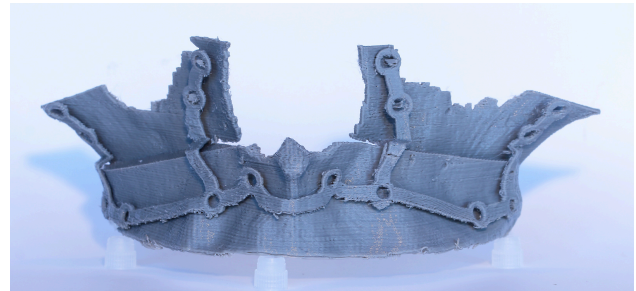


Figura 5. Resultado de la comprobación de un ajuste correcto entre modelo craneofacial y placa mediante el uso de prototipos plásticos.

El tiempo total necesario para el análisis del grosor óseo y de la variabilidad de la curvatura de la superficie ósea y para el diseño de la placa (teniendo en cuenta la posible necesidad de modificarlo) se estima en unas 10 horas aproximadamente.

4. Discusión

El ajuste entre los prototipos plásticos del modelo craneofacial y la placa de osteosíntesis se ha validado como correcto. Hay que remarcar que, al tratarse de un material plástico, permite una cierta flexibilidad que una placa de titanio no tendría. Este ajuste es clave para el éxito de todo el procedimiento, ya que esta técnica recae en el uso de una referencia no oclusal. Por tanto, para asegurar un correcto posicionamiento del maxilar tras la osteotomía no debe haber duda alguna sobre el lugar de colocación de la placa. Esto implica que la placa debe ajustarse al cráneo de una forma estricta y única.

Consecuentemente se determina que la guía quirúrgica es imprescindible para poder lograr los objetivos de mejora de la precisión en los resultados. Por un lado, la guía quirúrgica transfiere la información sobre la localización de las líneas de osteotomía y puntos de atornillado, guiando tanto sierra como taladro en las direcciones adecuadas. Esto permite asegurar unos procedimientos correctos y seguros. Para que esto sea posible la guía deberá abarcar una mayor superficie que la que ocupa la placa para evitar errores en el posicionamiento. Por otro lado, los puntos de atornillado de la guía son los mismos que se usarán para la placa, por lo que de esta manera se consigue que la placa se posicione en una única situación posible, ya que deberá ajustarse a la superficie ósea y, adicionalmente, sus posiciones de atornillado deberán coincidir con los de la guía. Por tanto se puede determinar a priori que la fiabilidad de la placa será correcta para transferir la información planificada a la realidad quirúrgica, siempre y cuando se utilice junto a la guía de corte y brocado.

Esto implica que habría que sumar tiempo de diseño y fabricación al proceso global. Sin embargo, el diseño de la guía se realizaría siguiendo el mismo procedimiento que se ha seguido para el diseño de la placa, dado que ambas van referenciadas a la superficie ósea y comparten los puntos de atornillado. Además, a diferencia de la placa, la fabricación de la guía se tendría que realizar en un material plástico,

por lo que no conllevaría un importante aumento del presupuesto ni del tiempo total.

Por todo lo anterior se puede concluir que el diseño y fabricación CAD/CAM de la guía de corte conllevaría un gasto de recursos mucho menor que el diseño y fabricación CAD/CAM de la placa, siendo por tanto la placa de osteosíntesis el elemento más importante a tener en cuenta en el desarrollo de esta técnica de posicionamiento.

Desde el punto de vista del diseño CAD/CAM de la placa de osteosíntesis los resultados obtenidos son satisfactorios. El diseño final de la placa ha sido aprobado por un cirujano maxilofacial, dado que se ha basado en las placas que son utilizadas hoy en día en esta cirugía, buscando un diseño más cómodo y fácil de manejar intraoperatoriamente. Este aspecto no podrá ser validado hasta que se realice el estudio clínico, pero dado que el campo quirúrgico en esta cirugía es muy reducido e incómodo se prevé que el diseño desarrollado en este estudio mejore la facilidad de manejo por parte del cirujano.

Todas las líneas futuras de trabajo del diseño se centran en facilitar el procedimiento a técnicos y cirujanos, consiguiendo crear un protocolo de fabricación de implantes personalizados que implique un esfuerzo y tiempo similar a la fabricación de implantes universales, generando así mejores resultados con un gasto similar de recursos. Por un lado, el proceso de diseño y fabricación CAD/CAM puede ser automatizado para acelerarlo y evitar posibles fuentes de errores. Por otro lado, el diseño de la placa se puede mejorar para conseguir mayor resistencia y estabilidad en la fijación, evitando así posibles recidivas. Para ello se puede incluir en las tuercas una rosca, de tal manera que el tornillo no se atornille únicamente al hueso sino también a la placa. La longitud de los tornillos también se puede customizar para el paciente según los resultados del análisis de grosor óseo. Finalmente, este tipo de técnica de posicionamiento se puede aplicar a diferentes casos de deformidades que hoy en día se consideran muy complejos para obtener buenos resultados.

5. Conclusiones

La cirugía ortognática es un procedimiento quirúrgico que requiere una precisa planificación. Las férulas oclusales diseñadas y fabricadas con tecnología CAD/CAM han mejorado la precisión con la que se realiza esta cirugía, pero sigue habiendo numerosos aspectos que suelen ser fuentes de error que afectan nocivamente al resultado final. En este trabajo de investigación se ha desarrollado una técnica de posicionamiento y fijación simultánea del maxilar superior, aplicada a osteotomías tipo Lefort I por su simplicidad. Se ha diseñado la técnica de manera personalizada para el paciente y utilizando una referencia más fiable que la convencional referencia oclusal, aspectos

que permitirán reproducir con mayor exactitud la planificación virtual 3D, evitando así todos los problemas anteriormente descritos.

Referencias

- [1] Andrades, P. & Sepúlveda, S. (2005). *Cirugía plástica esencial. IX Cirugía Ortognática* (1st ed., pp. 146-151). Chile: Universidad de Chile.
- [2] Raspall, G. (1997). *Cirugía maxilofacial: patología quirúrgica de la cara, boca, cabeza y cuello* (1st ed., pp. 31, 46-55). Madrid: Médica panamericana.
- [3] Birbe, J. (2014). Planificación clásica en cirugía ortognática. *Revista Española De Cirugía Oral Y Maxilofacial*, 36(3), 99-107. <http://dx.doi.org/10.1016/j.maxilo.2012.04.007>
- [4] Aboul-Hosn Centenero, S. (2014). Planificación tridimensional y utilización de férulas Computer Aided Design/Computed Aided Manufacturing en cirugía ortognática. *Revista Española De Cirugía Oral Y Maxilofacial*, 36(3), 108-112. <http://dx.doi.org/10.1016/j.maxilo.2013.02.003>
- [5] Hammoudeh, J., Howell, L., Boutros, S., Scott, M., & Urata, M. (2015). Current Status of Surgical Planning for Orthognathic Surgery. *Plastic And Reconstructive Surgery Global Open*, 3(2), e307. <http://dx.doi.org/10.1097/gox.0000000000000184>.
- [6] Pascual Gil, J.V., Marqués Mateo, M., Puche Torres, M., Miragall Alba, L., & Iglesias Gimilio, M.E.. (2004). Férula quirúrgica intermedia en cirugía ortognática bimaxilar: Un método simple de obtención. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial*, 26(6), 403-411. Retrieved 15 May from http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-05582004000600006&Ing=es&tlng=es
- [7] Polley, J., & Figueroa, A. (2013). Orthognathic Positioning System: Intraoperative System to Transfer Virtual Surgical Plan to Operating Field During Orthognathic Surgery. *Journal Of Oral And Maxillofacial Surgery*, 71(5), 911-920. <http://dx.doi.org/10.1016/j.joms.2012.11.004>
- [8] Kang, S., Kim, M., Kim, B., & Lee, S. (2014). Orthognathic Y-splint: a CAD/CAMengineered maxillary repositioning wafer assembly. *British Journal Of Oral And Maxillofacial Surgery*, 52(7), 667-669. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjoms.2014.01.023>
- [9] Foundation, B. (2017). blender.org - Home of the Blender project - Free and Open 3D Creation Software. blender.org. Retrieved 5 June, from <https://www.blender.org/>
- [10] Brunso, J., Prol, C., Franco, M., de Carlos, F., Martin, J. C., & Santamaria, J. A. (2017). Guías y miniplacas personalizadas: un protocolo guiado para cirugía ortognática. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial*, 39(1), 7-14.
- [11] Rubio-Palau, J., Hueto-Madrid, J. A., & González-Lagunas, J. (2012). Planificación 3D en cirugía ortognática. *Rev Esp Ortod*, 42, 17-21.

Desarrollo de una metodología de segmentación y cuantificación automática mediante un umbral adaptativo del enfisema y las regiones de baja densidad funcional pulmonar a partir de imágenes de TCMD

I. Mayorga-Ruiz¹, F. García-Castro¹, R. Yébana-Huertas¹, L. Martí-Bonmatí^{1,2}, Á. Alberich-Bayarri^{1,2}

¹ Quibim, Quantitative Imaging Biomarkers in Medicine, Valencia, España.

² Grupo de Investigación Biomédica en Imagen, GIBI2³⁰, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia, España.

Resumen

Introducción: El enfisema pulmonar es una de las principales alteraciones en el parénquima pulmonar debido a la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). El objetivo de este trabajo es desarrollar una metodología automática para la segmentación de los pulmones, el enfisema pulmonar, las bajas densidades pulmonares y el árbol vascular pulmonar.

Metodología: La nueva metodología automática se desarrolló y validó en 23 y 81 adquisiciones respectivamente de tomografía computarizada (TC) de tórax. Los pulmones y vasos sanguíneos se segmentaron y clasificaron atendiendo a la localización espacial de las estructuras detectadas. El enfisema y las bajas densidades funcionales se segmentaron tanto utilizando un umbral fijo de -950 UH como mediante un umbral adaptativo específico a la imagen.

Por último, se cuantificaron los volúmenes absolutos y relativos de enfisema y bajas densidades funcionales. Estos biomarcadores se midieron para cada pulmón, así como en tercios en la dirección cráneo-caudal.

Resultados: La ejecución completa del algoritmo es de 30 minutos de promedio. Los valores calculados mediante el umbral adaptativo eran menores que los calculados mediante el umbral fijo. El umbral adaptativo es capaz de caracterizar de una manera más exacta el enfisema pulmonar y las bajas densidades pulmonares. Para el enfisema pulmonar, la mejora es de un 50% siendo del 20% para las bajas densidades funcionales. La mayoría de los estudios fueron clasificados como enfisema centrolobulillar gracias a la clasificación por tercios.

Conclusiones: El método de segmentación y cálculo de enfisema pulmonar desarrollado es automático, reproducible, y proporciona resultados que han facilitado su integración en uso clínico.

1. Introducción

El enfisema pulmonar se define como un aumento anormal y permanente de los espacios aéreos distales al bronquiolo terminal, acompañado de destrucción de sus paredes con o sin fibrosis obvia. Esta causa el 5% de las muertes, así como es la responsable del 35% de trasplantes de pulmón a nivel mundial [1]. Existen tres tipos de enfisema que son: en primer lugar, el centrolobulillar caracterizado por la distribución homogénea del enfisema en el ápex del pulmón. La segunda es la denominada panlobulillar,

caracterizada por la acumulación de parches enfisematosos principalmente en la base del pulmón. Por último, el enfisema paraseptal se caracteriza por que las regiones enfisematosas se encuentran localizadas en la línea septal o adyacente a la pleura [2].

Para la cuantificación se define el valor de -950 unidades Hounsfield (UH), como el umbral más extendido para la segmentación del enfisema pulmonar. Debido a la cronicidad y gravedad de la enfermedad así como a que la imagen de TC multi-detector (TCMD) está significativamente influenciada por las características de adquisición de la imagen, el equipo utilizado, así como las características del paciente, se cree necesario el desarrollo de una metodología que permita la segmentación automática a partir de un umbral adaptativo específico a la imagen del enfisema pulmonar así como de todas aquellas regiones con bajas densidades funcionales, regiones no patológicas, pero con características sospechosas para en un futuro desarrollar enfisema [3].

2. Objetivos

El objetivo principal de este trabajo es generar una sucesión de módulos de análisis capaz de segmentar automáticamente el enfisema y bajas densidades pulmonares a partir de imágenes TCMD aplicando el cálculo de un umbral adaptativo específico a la imagen.

Para ello, se descompone en tres objetivos específicos:

- 1) Desarrollar una metodología automática para la segmentación de las estructuras pulmonares a partir de imágenes TCMD.
- 2) Implementar el cálculo del umbral adaptativo para la segmentación del enfisema pulmonar y las bajas densidades funcionales.
- 3) Comprobar la variación entre la cuantificación efectuada mediante la umbralización estándar (-950 UH) y la realizada mediante el umbral adaptativo.

3. Material y métodos

Los algoritmos se desarrollaron en Matlab 2015^a (Mathworks Inc, Natick, MA, USA) como entorno de programación.

3.1. Base de datos utilizada

Para desarrollar y testear la metodología que se va a presentar a continuación se utilizaron dos bases de datos retrospectivas compuesta por 23 y 81 estudios respectivamente realizados a pacientes con EPOC (39 varones y 42 mujeres en la base de datos de testeo) realizadas entre agosto de 2012 y mayo 2017. Los pacientes involucrados en el estudio de testeo tienen una distribución media en edad de 35 ± 18 años (36 ± 16 varones vs. 35 ± 19 mujeres).

- Parámetros de adquisición

Los estudios TCMD de pulmón se adquirieron con un sistema de 256 detectores (iCT, Philips Healthcare, Best, The Netherlands). El protocolo de adquisición consistió en 120kVp de voltaje, entre 100-250mAs de corriente del tubo de rayos X, utilizando la opción de modulación de dosis. La resolución espacial en el plano fue de 0.255×0.255 mm y el ancho de corte de 0.625mm. Los estudios se reconstruyeron utilizando la ventana de mediastino con el kernel B20f. Así mismo, los estudios se adquirieron en apnea inspiratoria debido a que los pacientes que padecen enfisema toleran mejor este tipo de apnea, así como que los detalles anatómicos característicos del enfisema son más fácilmente visibles.

3.2. Procesado de las imágenes

Con el objetivo de segmentar automáticamente los pulmones, el enfisema y las bajas densidades funcionales los estudios de TCMD deben ser procesados, desde la lectura de las imágenes hasta la clasificación de las estructuras detectadas. Inicialmente las imágenes DICOM fueron convertidas a formato NIFTI-1 (Neuroimaging Informatics Technology Initiative) para una mejor gestión de la memoria.

Una vez leídas, las imágenes fueron binarizadas con un umbral de -450 UH con el fin de realizar una segmentación preliminar de los pulmones. Tras el estudio del histograma de la imagen se fijaron las -450 UH como el umbral óptimo para la binarización de la imagen fuente. La segunda fase del procesado de las imágenes está orientada a eliminar posibles errores de segmentación. Para ello, la imagen umbralizada se filtró mediante un algoritmo de componentes conectados usando los 8 vecinos más cercanos como ventana. A continuación, se rellenaron todos los huecos presentes mediante un algoritmo de relleno o *floodfill*, para crear máscaras sólidas que se utilizarán para la segmentación posterior de las imágenes originales (Figura 1).



Figura 1. Segmentación pulmonar preliminar

Tras la segmentación de la imagen con las máscaras previamente obtenidas se procede a clasificar las estructuras detectadas en pulmón derecho e izquierdo. Esta clasificación se realizó inicialmente mediante el uso de la transformación Watershed [4], y de la transformada de la distancia [5] que se usaron para la detección del plano que pasa entre ambos pulmones minimizando así problemas en la separación de los pulmones (Figura 2).

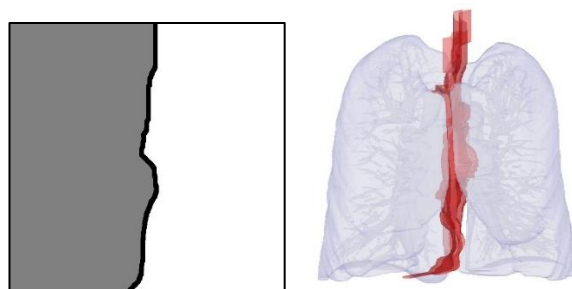


Figura 2. Plano divisorio (izq). Visualización 3D de los pulmones segmentados a partir del TC original y del plano divisorio (der)

El siguiente paso del algoritmo es la clasificación de las estructuras detectadas en pulmón derecho e izquierdo. Para ello se implementó una metodología basada en la localización espacial de las estructuras, así como el tamaño de los mismos. Atendiendo a la localización espacial se impuso la condición de que para ser considerado pulmón la diferencia entre las coordenadas x e y del centroide debe ser 10 o -10 en función de que sea pulmón izquierdo o derecho respectivamente. Así mismo, la coordenada z del centroide debe estar localizada en los dos tercios superiores del volumen total del estudio. Por último, una estructura es considerada pulmón si el volumen de la misma es al menos el 10% del volumen total del estudio. Estos umbrales de clasificación se fijaron tras el estudio detallado de los mejores umbrales de clasificación.

Finalmente, y previo a la cuantificación, se procedió a segmentar los vasos sanguíneos, el enfisema pulmonar y las bajas densidades funcionales.

- Segmentación de vasos sanguíneos:

Los vasos sanguíneos en los TC de tórax se visualizan como pequeñas estructuras hiper intensas, debido a ello se procedió a realizar una segmentación inicial a partir de la diferencia entre la imagen original y su complementaria. Posteriormente mediante el uso de un filtro Frangi [6], que usa los autovectores de la matriz Hessiana para calcular la probabilidad de que una región de la imagen contenga vasos sanguíneos, se refinó la segmentación preliminar de los vasos.

- Segmentación de enfisema pulmonar y bajas densidades funcionales:

El enfisema pulmonar y las bajas densidades funcionales se segmentaron mediante dos métodos, inicialmente se usó el método estándar del umbral fijo y segundo se implementó el cálculo de un umbral adaptativo específico a la imagen.

- Método umbral fijo:

Se utilizó un valor de -950 UH de umbral para la segmentación del enfisema, para la segmentación de las bajas densidades funcionales se utilizó el rango comprendido entre -950 UH y -856 UH.

- Método umbral adaptativo:

Inicialmente se segmentó el aire de la imagen usando como umbral los -950 UH de tal manera que a diferencia de lo realizado para la segmentación del enfisema se tomaba como 1 todos los valores mayores al umbral de -950 UH. Una vez segmentado el aire de la imagen se calculó el nuevo umbral adaptativo siendo este la suma de la media del primer 2% de valores de aire de la imagen más la desviación estándar de todos los valores de aire extracorpóreo de la imagen.

$$U_{adap} = media(2\% \text{ aire}) + std(\text{aire})$$

Ecuación 1: Cálculo del umbral adaptativo

Para las bajas densidades funcionales se asumió que las regiones inespecíficas eran aquellas comprendidas entre -856, valor fijado como parénquima sano y 94 UH sobre el umbral adaptativo previamente calculado. Se asumió este valor de 94 UH ya que es la diferencia que existe entre -856 y -950 UH en el caso del método fijo, existiendo por ende esta diferencia también en el método adaptativo.

Por último, se procedió a cuantificar los volúmenes absolutos y relativos frente al volumen pulmonar de los vasos sanguíneos, enfisema y bajas densidades funcionales. Para proveer información con significado los biomarcadores se calcularon tanto para el pulmón izquierdo como para el derecho, así como para los tercios pulmonares facilitando de esta manera la posibilidad de inferir la etiología del enfisema. El algoritmo finaliza con la reconstrucción de los volúmenes 3D, así como la superposición de las segmentaciones sobre las imágenes fuente (Figura 3), de esta manera no sólo se provee información cuantitativa sobre la enfermedad sino

morfológica de la distribución de la misma en los pulmones.

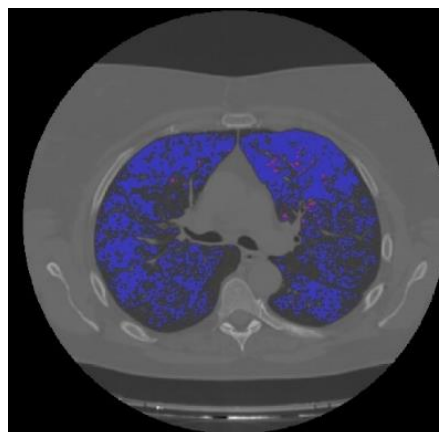


Figura 3. Imagen fuente con segmentación de enfisema (rojo) y bajas densidades (azul) superpuestas

4. Resultados y Discusión

La metodología automática presentada fue desarrollada y validada satisfactoriamente en 23 y 81 estudios TC de tórax retrospectivamente, obteniendo una ratio de eficiencia en ejecución del 100%. El tiempo medio en ejecución fue de 30 minutos dependiendo este directamente del tamaño del estudio. Para una correcta visualización, así como para obtener resultados confiables, el ancho de corte mínimo requerido es de 2 mm.

	Valores medios de % de enfisema y bajas densidades funcionales (BDF)		
	Hombre	Mujer	Total
% Total Enfisema Fijo	16,08	13,13	12,95
% Total Enfisema Adaptativo	8,66	7,82	7,50
% Total BDF Fijo	48,79	49,80	49,55
% Total BDF Adaptativo	39,65	38,10	39,30

Tabla 1. Valores medios de % de enfisema y bajas densidades funcionales (BDF)

La validación de la segmentación pulmonar se realizó mediante inspección visual, superponiendo mediante fusión de imágenes sobre la imagen fuente las máscaras

obtenidas en la segmentación. Pudiendo de esta manera verificar que la segmentación pulmonar se realizaba correctamente en todos los estudios utilizados.

Atendiendo a los biomarcadores de imagen calculados a partir de los TC de tórax, se puede apreciar que el volumen pulmonar derecho es un 14.04% y 10.66% mayor que el pulmón izquierdo para hombres y para mujeres respectivamente.

En la Tabla 1, se muestran los valores medios relativos frente al volumen pulmonar total obtenidos tras la cuantificación del enfisema pulmonar y las bajas densidades funcionales mediante tanto el método de umbral fijo como para el de umbral adaptativo atendiendo al sexo. Así mismo, también se proveen los valores medios totales en toda la muestra estudiada sin distinción de sexo.

5. Discusión

El enfisema pulmonar se caracteriza por la destrucción del parénquima pulmonar causando la reducción de las densidades pulmonares en los estudios de TC.

Se puede apreciar que los volúmenes pulmonares femeninos son alrededor de un 12.61% inferiores a los de los varones. Por otro lado, y en cuanto a la segmentación del enfisema pulmonar, se aprecia que de media la cuantificación realizada mediante el método de umbral fijo es un 54.39 % mayor que la realizada mediante el umbral adaptativo. Se puede inferir que la segmentación mediante umbral fijo sobreestima el enfisema presente en el estudio de TC de tórax debido a que no tiene en cuenta las características de adquisición, ni las del escáner ni del paciente.

En cuanto a la cuantificación de las bajas densidades funcionales (BDF) se aprecia una disminución del 20.69% entre los valores calculados mediante el umbral fijo y los segmentados mediante el umbral adaptativo.

Atendiendo a la cuantificación en tercios pulmonares, mayoritariamente las detecciones enfisematosas y de bajas densidades pulmonares se ven localizadas en el ápex pulmonar, así mismo, gracias a las visualizaciones 3D se puede apreciar que tiene una distribución homogénea haciendo pensar que mayoritariamente los pacientes estudiados sufren de enfisema tipo centrolobulillar. Actualmente, varios estudios defienden la clasificación fenotípica del enfisema pulmonar, por ejemplo, Kloth et al utiliza el software Pulmo 3D para segmentar el enfisema pulmonar mediante un umbral de -950 UH. Esta segmentación le permite diferenciar entre la distribución homogénea del enfisema característica del fenotipo centrolobulillar de la distribución en parches característica del panlobulillar [7].

El estudio presentado, tiene varias limitaciones, la primera es que para una correcta segmentación del enfisema y las bajas densidades funcionales los estudios deben estar reconstruidos con la ventana de mediastino y el kernel B20f. Así mismo, la metodología de cuantificación del enfisema o de las bajas densidades funcionales no está validada para adquisiciones de TC en baja dosis. La tercera, es que la base de datos utilizada no es muy amplia

por lo que los resultados y conclusiones obtenidos deben seguir siendo investigados. La cuarta es la ausencia de una validación completa de los resultados de la cuantificación del enfisema por parte de un especialista.

6. Conclusiones

La segmentación mediante un umbral adaptativo específico a la imagen es capaz de caracterizar de una manera más precisa el enfisema pulmonar y las bajas densidades pulmonares. Para el enfisema pulmonar, la mejora en la precisión es de un 50% siendo del 20% para las regiones con bajas densidades funcionales. En trabajos futuros esta conclusión será comprobada mediante la comparación de los resultados frente al diagnóstico de un especialista.

La etiología del enfisema pulmonar puede inferirse a partir de la cuantificación de los estudios TC de tórax en los distintos tercios pulmonares, predominando en los estudios analizados el fenotipo centrolobulillar.

Referencias

- [1] Mathers CD, Loncar D. Projections of Global Mortality and Burden of Disease from 2002 to 2030 *PLoS Medicine*. 2006 Nov 28; 209–224
- [2] Takahashi M, Fukuoka J, Nitta N, et al. Imaging of pulmonary emphysema: A pictorial review. *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*. 2008;3(2):193-204.
- [3] Owrangi AM, Entwistle B, Lu A, Chiu J, Hussain N, Etemad-Rezai R, Parraga G ,Semi-automated scoring of pulmonary emphysema from X-ray CT: trainee reproducibility and accuracy.*Eur J Radiol*. 2013 Nov;82(11):e734-41.
- [4] Meyer, Fernand, Topographic distance and watershed lines, *Signal Processing* , Vol. 38, July 1994, pp. 113-125
- [5] Maurer, Calvin, Rensheng Qi, and Vijay Raghavan, A Linear Time Algorithm for Computing Exact Euclidean Distance Transforms of Binary Images in Arbitrary Dimensions, *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, Vol. 25, No. 2, February 2003, pp. 265-270.
- [6] A.F. Frangi, W.J. Niessen, K.L. Vincken, M.A. Viergever. Multiscale vessel enhancement filtering. In *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention - MICCAI'98*, W.M. Wells, A. Colchester and S.L. Delp (Eds.), *Lecture Notes in Computer Science*, vol. 1496 - Springer Verlag, Berlin, Germany, 1998, pp. 130-137.
- [7] Kloth C, Thaiss WM, Ditt H, et al. Segmental bronchi collapsibility: computed tomography-based quantification in patients with chronic obstructive pulmonary disease and correlation with emphysema phenotype, corresponding lung volume changes and clinical parameters. *Journal of Thoracic Disease*. 2016;8(12):3521-3529.

Caracterización de la actividad muscular respiratoria en señales de electromiografía de superficie adquiridas mediante electrodos anulares concéntricos

M. Ràfols-de-Urquía^{1,2}, J. Estévez-Piorno^{1,2}, L. Estrada^{1,2,3},

J. Garcia-Casado⁴, G. Prats-Boluda⁴, L. Sarlabous^{1,2,3}, R. Jané^{1,2,3}, A. Torres^{1,2,3}

¹Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), The Barcelona Institute of Science and Technology, Barcelona, España.
{mrafols, jestevez, atorres, lestrada, lsarlabous, rjane}@ibecbarcelona.eu

²Universitat Politècnica de Catalunya (UPC) – Barcelona Tech, Barcelona, España

³Biomedical Research Networking Center in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), España

⁴Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería, (CI2B) – Universitat Politècnica de València (UPV), Valencia, España, {jgarciac, geprabo}@eln.upv.es

Resumen

La evaluación de la actividad muscular respiratoria mediante electromiografía de superficie (sEMG) es una técnica no invasiva prometedora para el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. El diafragma es el músculo más importante en la respiración, aunque en inspiración forzada otros músculos, como el esternocleidomastoideo, se activan y contribuyen en el proceso respiratorio. La medida del sEMG en estos músculos (sEMGdi y sEMGscm, respectivamente) mediante dos electrodos en configuración bipolar convencional (EBs) es una práctica común para evaluar la actividad muscular respiratoria y permite cuantificar de forma indirecta el nivel de activación muscular o esfuerzo. No obstante, las señales resultantes suelen estar contaminadas por otras fuentes bioeléctricas, dificultando la evaluación de los músculos en cuestión. En este escenario, el objetivo de este proyecto es evaluar la aplicabilidad de electrodos anulares concéntricos en configuración bipolar (ECs) para el registro de sEMG de músculos respiratorios. Con este fin, se registraron señales sEMGdi y sEMGscm con los dos tipos de electrodos en sujetos sanos mientras realizaban un protocolo de carga inspiratoria. La interferencia de la actividad cardíaca y el ratio inspiración/expiration fueron evaluadas, así como también otros parámetros de amplitud y frecuencia. Se encontró una menor interferencia cardíaca y un contenido espectral más amplio en las señales adquiridas con ECs. Además, para la colocación de los ECs no es necesario contemplar la orientación de las fibras musculares, por lo que el uso de estos electrodos es una alternativa muy atractiva para la adquisición del sEMG en músculos poco accesibles desde la superficie, como el diafragma.

1. Motivación

La Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) afecta actualmente a 64 millones de personas y se especula que, en los próximos años, se convertirá en la cuarta causa de muerte a nivel mundial (OMS 2011). Se trata de una enfermedad respiratoria que incrementa la resistencia en las vías aéreas al paso del aire, induciendo debilidad o disfunción en la musculatura respiratoria [1].

La evaluación de la musculatura respiratoria mediante la electromiografía de superficie (sEMG) es una práctica clínica complementaria a las rutinas clásicas para evaluar la musculatura respiratoria en pacientes con EPOC, ya que proporciona información indirecta útil sobre la función muscular respiratoria [2]. La sEMG refleja la actividad

global generada por las fibras musculares. Por eso, su uso en músculos no superficiales como el diafragma está limitado debido al efecto de las distintas capas de tejidos que actúan como un filtro, dando lugar a señales de baja resolución espacial [3] e interferidas por la actividad de músculos adyacentes. Por otro lado, el estudio del sEMG en músculos accesorios, como el esternocleidomastoideo (sEMGscm), también ofrece potencial para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con EPOC [4]. Aunque se trata de un músculo superficial y más accesible, el sEMGscm suele contaminarse por artefactos de movimiento y por la actividad de músculos adyacentes, como el escaleno [5]. Adicionalmente, el sEMG adquirido con electrodos superficiales bipolares (EBs) en zonas cercanas al tronco superior, se encuentra habitualmente solapado con la actividad electrocardiográfica (ECG).

En la actualidad, se han propuesto diferentes técnicas de procesado de señales para atenuar la interferencia del ECG, pero conllevan la pérdida de información en el rango solapado de frecuencias del sEMG. Recientemente, diversos estudios han revelado que el uso de electrodos anulares concéntricos (ECs), podría mejorar la adquisición del sEMG [6], [7]. Esta configuración permite estimar el Laplaciano del potencial de superficie, que es proporcional a la densidad de corriente ortogonal al punto de registro y por tanto es capaz de atenuar las interferencias en puntos más alejados, ofreciendo una mayor resolución espacial [3] y reduciendo la interferencia del ECG [7].

En este estudio, se implementó un protocolo respiratorio en ocho sujetos sanos, para el registro de señales sEMGdi y sEMGscm mediante EBs y ECs de forma simultánea. Los registros con ECs fueron comparados con los obtenidos utilizando EBs mediante la extracción de parámetros de amplitud y frecuencia, con el objetivo de evaluar si el uso de ECs permite una mejora en las técnicas de diagnóstico, rehabilitación y tratamiento a través de las señales sEMG.

2. Materiales y métodos

Ocho voluntarios sanos (5 hombres y 3 mujeres, media \pm desviación estándar: edad 22.38 \pm 1.19 años, altura 170 \pm 8.49 cm, peso 64.75 \pm 3.53 kg), participaron en un protocolo respiratorio, realizado en el Institut de

Bioingeniería de Catalunya y previamente aprobado por el *Institutional Review Board* de la institución. Se informó del propósito del estudio a todos los sujetos, quienes firmaron un consentimiento de participación de acuerdo con los métodos experimentales empleados.

2.1. Protocolo respiratorio

Los sujetos iniciaron el protocolo realizando un test de presión inspiratoria máxima (PIM). A continuación, fueron sometidos a un test de carga incremental (TCI), que consistió en respirar 15 ciclos a volumen corriente (VC) seguido de 15 ciclos a diferentes niveles de carga inspiratoria, al 20%, 40% y 60% de la PIM alcanzada previamente. Después de cada carga, los sujetos descansaron 5 minutos. La presión en boca impuesta para lograr un esfuerzo inspiratorio adicional se generó con un dispositivo para el entrenamiento de la musculatura respiratoria (Power Breathe™ KH2, IMT Technologies Ltd., Birmingham, England). Durante el protocolo los sujetos permanecieron sentados, manteniendo una postura cómoda y erguida, y se les proporcionó una pinza para evitar la respiración nasal [8].

2.2. Adquisición de las señales

Todas las señales fueron adquiridas y muestreadas a 2000 Hz con un equipo de adquisición estándar de 24 bits de resolución (Biopac™ MP150, Biopac Systems, Santa Barbara, CA, USA), visualizadas en tiempo real en un monitor y guardadas en un PC con el software del equipo (AcqKnowledge software v.3.2 Biopac Systems Inc.).

Para la adquisición de señales de sEMG durante el TCI, se emplearon 3 pares de EBs (DENIS01520, Spes Medica, Battipaglia, Italy) y 3 ECs (CODE5000S0, Spes Medica), conectados a distintos módulos acondicionadores de EMG (EMG100, Biopac Systems Inc.), con una ganancia de 1000 y un filtro analógico paso-banda de 1 a 500 Hz. Para el registro del sEMGdi, se colocaron dos pares de EBs en ambos lados del sujeto a lo largo de la línea axilar media, entre el 7.º y 8.º espacio intercostal [9]. Adyacente a cada par (a 5 cm), se posicionó un EC. Por otro lado, para obtener las señales de sEMGscm, se utilizó un par de EBs posicionados el lado derecho del cuello y un EC en el lado opuesto Figura 1. El electrodo de referencia fue posicionado en la zona del acromion. Previamente a la colocación de los electrodos, se preparó la piel con una crema abrasiva (Nuprep, Weaver and Company, Aurora CO, USA) y se limpió con alcohol isopropílico con el fin de reducir la impedancia.

Adicionalmente, se registró el ECG empleando la primera derivación mediante dos electrodos convencionales Ag/AgCl (EL501, Biopac Systems, Inc.) conectados a un módulo acondicionador de ECG (ECG100, Biopac Systems Inc.) con una ganancia de 1000 y un filtro analógico paso-bajo de 35 Hz. También se registró la presión en boca (Presión) mediante un transductor de presión diferencial (TSD160A, Biopac Systems, conectado a amplificador modular general (DA100C, Biopac Systems, Inc.) con un filtro analógico paso-bajo fijado a 300 Hz y una ganancia de 1000.

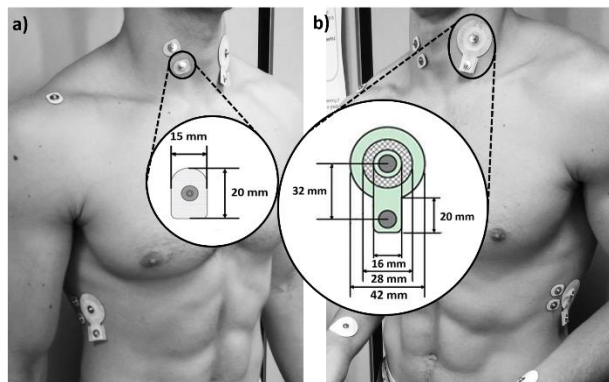


Figura 1. Colocación y dimensión de los (a) electrodos en configuración bipolar y (b) electrodo anular concéntrico en configuración bipolar empleados en el protocolo respiratorio.

2.3. Pre-procesado y procesado de las señales

Las señales fueron exportadas y tratadas mediante el software MATLAB (The MathWorks, Inc., v. R2016b, Natick, MA, USA). Se filtraron las señales de sEMG y ECG con un filtro Butterworth de fase nula, 4.º orden y paso banda entre 5 y 400 Hz, y entre 0.5 y 35 Hz, respectivamente. Adicionalmente, se aplicaron tres filtros notch de 2.º orden para eliminar la interferencia de la red eléctrica a 50 Hz, y sus armónicos a 100 Hz y 150 Hz. La señal Presión fue filtrada usando un filtro Butterworth, de fase nula y 4.º orden, paso-bajo con una frecuencia de corte de 5 Hz.

Para el estudio de la actividad muscular inspiratoria se segmentó el sEMG en 4 tipos de segmentos: T11 - segmentos inspiratorios con ECG, T12 - segmentos espiratorios con ECG, T21 - segmentos inspiratorios sin ECG y T22 - segmentos espiratorio sin ECG (Figura 2). Los ciclos inspiratorios y espiratorios se detectaron a partir de la señal Presión, mientras que los segmentos sin ECG se seleccionaron entre compiel final de la onda T y el inicio de la onda P del ECG, siendo segmentos con ECG los comprendidos entre el tramo restante. A continuación, se cuantificó la densidad espectral de potencia (DEP) en cada tipo de segmento de señal mediante el periodograma modificado utilizando una ventana Hamming y la transformada discreta de Fourier calculada con 4096 puntos (NFFT = 4096). Seguidamente, se promediaron los periodogramas de todos los segmentos de un mismo tipo (Figura 2 c y d) y se obtuvo la potencia espectral media (Pm) de cada tipo de segmento, en cada carga y para cada sujeto. A partir de estas potencias, se calcularon dos ratios: Rcardio, diseñado para cuantificar la influencia del ECG en la señal de sEMG (Ecuación 1) y Rins/esp, para valorar el nivel de ruido y la evolución de la actividad muscular a medida que la carga aumenta (Ecuación 2).

$$R_{cardio} = \frac{P_m(T21)}{P_m(T12)} \quad (1) \quad R_{ins/esp} = \frac{P_m(T21)}{P_m(T22)} \quad (2)$$

Por otro lado, para evaluar el contenido frecuencial de las señales, se estimó la frecuencia media (Fmedia) y la dispersión frecuencial de la DEP (Fdisp), que corresponde al rango de frecuencia que contiene el 5 % y el 95 % de la energía de la señal.

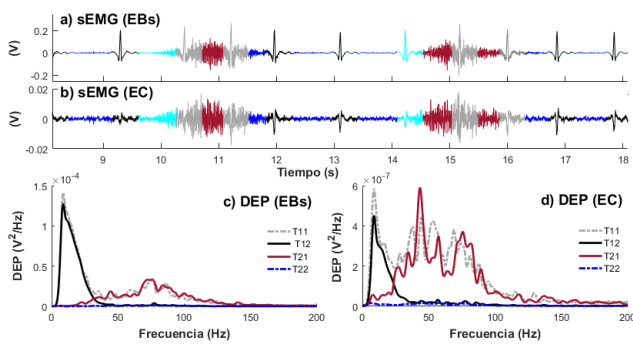


Figura 2. Análisis y comparación de las señales adquiridas con EBs y el EC, en el diafragma izquierdo del sujeto 1 durante la tercera carga del TCI. (a) Señal de sEMG di segmentada en los distintos tramos adquirida con EBs y (b) con el EC. (c) Comparación de la DEP media de los distintos tipos de segmento de las señales obtenidas con EBs y (d) con el EC.

2.4. Análisis de datos

Los parámetros y ratios resultantes de las señales adquiridas con ECs fueron comparados a los obtenidos a partir de señales registradas con EBs en cada una de las tres zonas de registro: cuello, diafragma izquierdo, diafragma derecho. Se representó la distribución de los valores obtenidos para Rcardio, Rins/esp, Fmedia, Fdisp y Pm mediante gráficos Box-plot. Además, se realizó un análisis estadístico de Wilcoxon por medio del IMB SPSS Statistics (IBM Corp, v. 23, Armonk, N.Y., USA), con el fin de evaluar diferencias significativas entre los parámetros obtenidos a partir de las señales registradas por los dos tipos de electrodos.

3. Resultados

En general, los valores de Rcardio obtenidos fueron superiores en las señales de ECs que en las de EBs, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en las señales registradas a VC en dos de las zonas de registro. A mayor Rcardio, mayor es la diferencia entre la amplitud del ECG respecto al sEMG inspiratorio, por lo que existe más rechazo de ECG. Por otro lado, los valores de Rins/esp fueron inferiores en ECs que en EBs, con diferencias estadísticamente significativas en las zonas diafragmáticas ($p < 0.05$). Cuanto mayor es el Rins/esp, mayor es la diferencia entre la actividad del sEMG inspiratoria y el nivel de ruido o actividad basal.

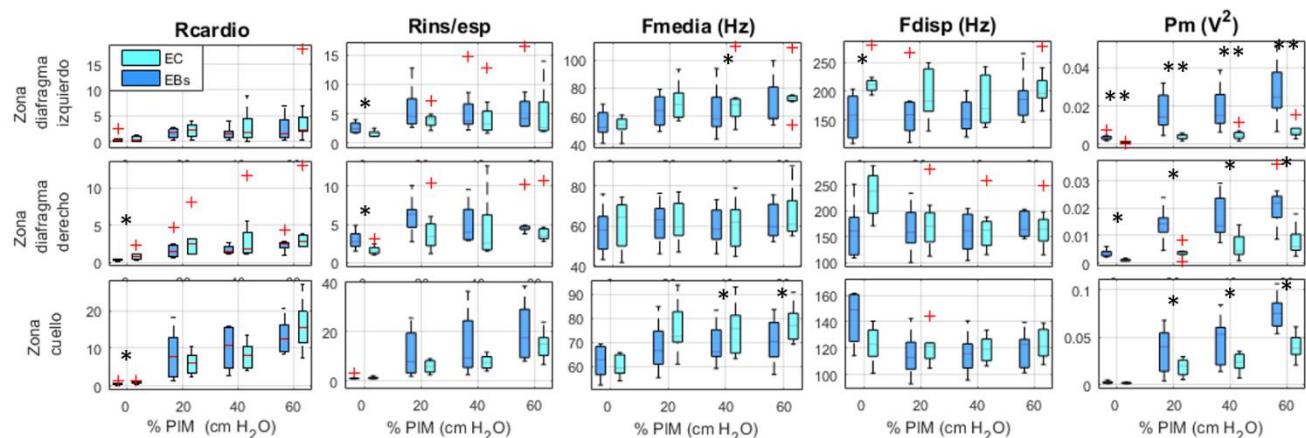


Figura 3. Distribución de los resultados por carga y tipo de electrodos de todos los sujetos. (**) p -valor inferior a 0.0005; (*) p -valor inferior a 0.05.

En la zona diafragmática, se obtuvo una frecuencia media ligeramente superior en las señales de sEMG adquiridas con ECs que con EBs, y una mayor diferencia en los valores de Fdisp, con diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en las señales adquiridas a VC. En la zona del cuello, los valores de Fmedia fueron muy superiores ($p < 0.05$), a excepción de las señales a VC, que fueron inferiores ($p < 0.05$). La Fdisp tuvo un comportamiento similar (Figura 3).

Finalmente, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.0005$ en el lado izquierdo del diafragma y $p < 0.05$, en las otras zonas) entre los valores de Pm (T21) de las señales registradas por los dos tipos de electrodos, siendo la Pm del EC superior en todos los casos.

4. Discusión y conclusión

En el presente estudio los EC han demostrado atenuar la actividad cardíaca que interfiere en los registros de señales musculares respiratorias. Esta propiedad del EC está relacionada con la resolución espacial que ofrece esta configuración, cuyas medidas permiten un rechazo mayor de la actividad bioeléctrica proveniente de otras fuentes alejadas de la zona de registro. Este comportamiento ha sido confirmado en otros estudios que evaluaron el sEMG registrado en el bíceps [6] y en el esternocleidomastoideo [10]. En efecto, el Rcardio fue generalmente superior en los registros con EBs adquiridos en la misma zona y de forma simultánea.

Cabe mencionar que, en la zona diafragmática, los electrodos se colocaron adyacentes, aunque a una distancia de 5 cm. Esto implica que un electrodo se encontrará más cercano al corazón, por tanto, será más susceptible al ruido cardíaco. En el presente estudio, el EB estuvo más alejado del corazón, y por ello en alguna de las cargas pudo ser menos afectado por la señal ECG. Estudios futuros, podrían evaluar el efecto que tiene la posición de los electrodos sobre los registros de señales, así como tener en cuenta la variabilidad entre sujeto o su postura.

El Rins/esp fue significativamente menor en las señales de registradas con ECs que en las provenientes de EBs, sugiriendo que presentan un nivel de ruido basal mayor. Aunque este ruido no ha sido estudiado en este trabajo su origen puede ser debido a que las señales registradas con

ECs tienen una menor amplitud en comparación con los registros con EBs, ya que se encontró una Pm (T21) menor y estadísticamente significativa en todos los casos. Además al ser la señal del EC calculada a partir de la derivada de su potencial, aumenta tanto la resolución de la señal como la del ruido [11]. También como los electrodos se adhieren en la piel de la zona inferior del torso, inevitablemente pueden doblarse según la postura del sujeto, perturbando el efecto Laplaciano e introduciendo ruido por artefactos de movimiento a la señal sEMGdi. En efecto, la curvatura de la piel se contempla como un problema para el uso de los ECs [12]. En algunos estudios, se propone una etapa preamplificadora cerca del electrodo, para mejorar el SNR de las adquisiciones [13], [11]. Igualmente, el diafragma es un músculo no periférico y la distancia óptima entre los anillos del EC aún no está establecida.

En este estudio, las frecuencias de las señales de sEMGdi fueron mayores en las señales de ECs que en las señales EBs. Esto puede ser debido a la función de transferencia espacial del filtro asociado su estructura [6]. En cuanto al sEMGscm, los parámetros frecuenciales también fueron superiores en ECs cuando se aplicó carga a los sujetos, pero fueron iguales o incluso inferiores en señales registradas a VC. Este comportamiento es debido a que el EB tiene una componente mayor de baja frecuencia ya que están más afectados a la vibración muscular. Esta vibración, aunque es menor a VC, es mucho más significativa en comparación con la activación muscular (prácticamente nula a VC para este músculo).

En conclusión, se ha demostrado que los ECs presentan ventajas respecto los EBs ya que atenúan las interferencias bioeléctricas como el ECG, y tienen un ancho de banda mayor que permite estudiar mejor las altas frecuencias [6]. Además, los sistemas Laplacianos son isotrópicos, y por ello la colocación es más sencilla, ya que el electrodo no debe orientarse de acorde con las fibras musculares, que en muchos casos son complejas de identificar. Los ECs tienen un gran potencial para la mejora de la práctica clínica en el seguimiento y evaluación de la actividad muscular respiratoria, pero es necesario estudiar nuevos diseños de electrodos y mejorar la arquitectura de los sistemas de adquisición para reducir el efecto del ruido basal.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado en parte por el programa CERCA (Generalitat de Catalunya) y el Ministerio de Economía y Competitividad, ref. DPI2015-68820-R (MINECO/FEDER). Luis Estrada ha sido financiado por parte del Instituto para la Formación y Aprovechamiento de Recursos Humanos y de la Secretaría Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (Programa IFARHU-SENACYT, beca 270-2012-27).

Referencias

- [1] T. Similowski and J. P. H. Derenne, Inspiratory muscle testing in stable COPD patients, *European Respiratory Journal*, vol 7, no 10, 1994, pp 1871–1876 (ISSN: 09031936).
- [2] G. J. Gibson *et al.*, ATS/ERS Statement on respiratory muscle testing, *American journal of respiratory and critical care medicine*, vol 166, no 4, 2002, pp 518–624 (ISSN: 1073449X).
- [3] W. Besio and T. Chen, Tripolar Laplacian electrocardiogram and moment of activation isochronal mapping, *Physiological Measurements*, vol 28, no 5, pp 515–529, 2007 (ISSN: 0967-3334).
- [4] M. A. Mañanas, R. Jané, J. A. Fiz, J. Morera, and P. Caminal, Study of myographic signals from sternomastoid muscle in patients with chronic obstructive pulmonary disease, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol 47, no 5, 2000, pp 674–681 (ISSN: 0018-9294).
- [5] A. De Troyer, R. Peche, J. C. Yernault, and M. Estenne, Neck muscle activity in patients with severe chronic obstructive pulmonary disease, *The American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, vol 150, no 1, 1994, pp 41–47 (ISSN: 1073-449X).
- [6] L. Estrada, A. Torres, J. Garcia-Casado, G. Prats-Boluda, and R. Jané, Characterization of laplacian surface electromyographic signals during isometric contraction in biceps brachii, *Proceeding of the 35th Annual International Confernece of IEEE Engineering Medicine and Biology Society (EMBC'13). Osaka, Japan, 2013*, pp 535–8 (ISSN: 1557-170X).
- [7] L. Estrada, A. Torres, J. Garcia-Casado, G. Prats-Boluda, Yiyao Ye-Lin, and R. Jané, Evaluation of Laplacian diaphragm electromyographic recording in a dynamic inspiratory maneuver, *Proceedings of the 36th Annual International Conference of IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC'14), Chicago, Illinois, USA, 2014*, pp 2201–2204 (ISSN: 1557170X).
- [8] L. Estrada, A. Torres, L. Sarlabous, and R. Jané, Improvement in Neural Respiratory Drive Estimation From Diaphragm Electromyographic Signals Using Fixed Sample Entropy, *IEEE Journal of Biomedical and Health Informatics*, vol 20, no 2, 2016, pp 476–485 (ISSN: 21682194).
- [9] Y. Deng, W. Wolf, R. Schnell, and U. Appel, New aspects to event-synchronous cancellation of ECG interference: An application of the method in diaphragmatic EMG signals, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol 47, no 9, 2000, pp 1177–1184 (ISSN: 00189294).
- [10] L. Estrada, A. Torres, L. Sarlabous, and R. Jané, Evaluation of sternocleidomastoid muscle activity by electromyography recorded with concentric ring electrodes, *XXXIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2015)*, no 1, 2015, pp 183–186 (ISBN: 9788460833543).
- [11] J. Lian, S. Srinivasan, H.-C. Tsai, D. Wu, B. Avitall, and B. He, Estimation of noise level and signal to noise ratio of laplacian electrocardiogram during ventricular depolarization and repolarization, *Pacing and Clinical Electrophysiology*, vol 25, no 10, 2002, pp 1474–1487 (ISSN: 01478389).
- [12] D. B. Geselowitz and J. E. Ferrara, Is accurate recording of the ECG surface Laplacian feasible?, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol 46, no 4, 1999, pp 377–381 (ISSN: 00189294).
- [13] G. Prats-Boluda, Y. Ye-Lin, E. Garcia-Breijo, J. Ibañez, and J. Garcia-Casado, Active flexible concentric ring electrode for non-invasive surface bioelectrical recordings, *Measurement Science and Technology*, vol 23, no 12, 2012, p 125703 (ISSN: 0957-0233).

TEMPORAL RECRUITMENT OF FORELIMB PROXIMAL AND DISTAL MUSCLES DURING REACHING AND GRASPING

M. Rodríguez-Cañón^{1,2}, R. Jané Campos¹, G. García²

¹ Institut de Bioenginyeria de Catalunya (IBEC), The Barcelona Institute of Science and Technology; Universitat Politècnica de Catalunya (UPC)-Barcelona Tech;

Biomedical Research Networking Center in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN).

² Departament de Biologia Cel·lular, Fisiologia i Immunologia, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain; Centro Investigación Biomédicas en Red Enfermedades Neurodegenerativas (CIBER-NED)

Abstract

Reaching and grasping is a voluntary movement based on the stereotyped recruitment from proximal to distal muscles of the forelimb in order to grasp an object. It is the unique movement behavioral model which allows the study of voluntary motor control and the underlying connectome controlling skilled hand movements. Rodents models are very similar to the humans' ones. Electromyographic (EMG) signals of successful attempts from a healthy rat have been analyzed. Algorithms have been designed and developed in order to characterize the reaching and grasping movement in terms of temporal recruitment, synchronization along the cycle, muscle activity pattern repeatability, muscle energy and center of gravity. This study claims to offer useful tools that collaborate on the better understanding of the control of neural network extending from the cortex to the spinal cord.

1. Introduction

Manual dexterity is indispensable for carrying out the vast majority of our normal daily activities, ranging from object manipulation to nonverbal communication. The central system neurons are unable to regenerate and the damage produced persists along the patient's lifestyle. We need to understand the spinal and cortical networks controlling hand function to further develop reliable therapies to promote plasticity and recovery. Whereas hand function is being extensively studied in non-human primates [1], much less is known in rodents. We will first need to develop behavioral and electrophysiological models to characterize the network architecture and function.

The hypothesis is that the stereotyped sequence of movements observed during reaching and grasping are under control of neuronal network extending from the cortex to the spinal cord. Thus, electrophysiological recordings from proximal and distal muscles of the preferred limb used to reach and grasp will show the synchronized temporal recruitment of these muscles. It is expected most proximal muscles, i.e the Deltoid and the Biceps are active during the whole reaching and grasping cycle, whereas the most distal muscles controlling extrinsic hand muscles are activated during grasping.

The aim of this work is to design and implement algorithms to obtain, from a large data set of raw reaching and grasping EMG recordings of rats, fast, precise and quantitative information to study in detail the forelimb

proximal and distal muscles activity, temporal recruitment and synchronization.

2. Material & Methods

2.1. Data Acquisition

A group of animals were trained to reach and grasp. The preferred paw to reach and grasp was identified and wire electrode were implanted intramuscular in selected muscles (Figure 1). Each animal was placed individually inside a plastic cage, with an opening to a platform, in which a chocolate pellet was placed. Simultaneously, the EMG wire electrodes were connected through a headplug and cable to an amplifier and data acquisition system (sampling frequency 10 kHz). Simultaneously, while the animals were reaching and grasping EMG and synchronized video recording were obtained (extensively described in Alam et al., 2017 [2]).

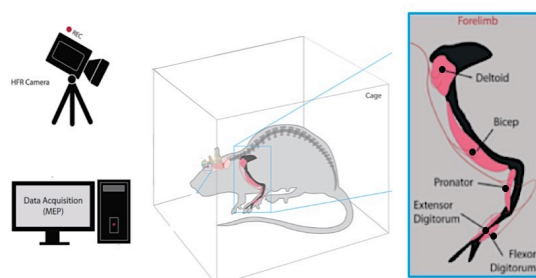


Figure 1. (A) Rat EMG recording setting up. (B) Sequence of forelimb movements performed by a rat during reaching and grasping a food pellet.

2.2. Onset and offset detection

From the entire EMG recording session, the segments in which the animals successfully reached and grasped were selected. This selection was done manually, using the video recording as a guide. For that reason, extra EMG information previous and after the movement was maintained (Figure 2). We have first designed an automatic onset and offset detection algorithm to define the start and end point of the muscles activation involved in this reaching and grasping movement.

Two defined threshold methods have been proposed. The first one consists to use a multiplicative factor of the

standard deviation (SD) of EMG baseline [3]. The onset-offset time-points were defined as the values in which the muscle activity is over the mean value plus a factor of the SD of the baseline; commonly used $\times 2$ or $\times 3$. The second one uses each signal maximal peak of activity as reference; the threshold is defined as a percentage of this maximal value, ranging from 5 to 25 percent of each muscle maximum peak value.

In order to avoid local maximums, it has been introduced a refining step that evaluates the mean of the following samples to confirm if the muscle activity has started.

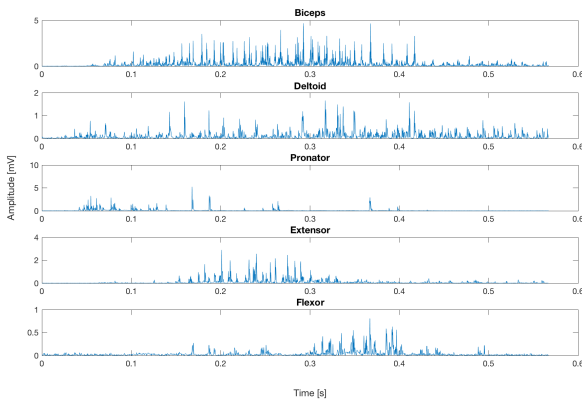


Figure 2. Raw EMG signals of the five muscles involved on the reaching and grasping.

The results of both methods have been compared with those obtained by manual annotations done by an expert, obtained under blind conditions. For each signal, the difference, in seconds, between the values of the onset and offset of both methods and the reference value were calculated. Afterwards, the mean and standard deviation of these individual differences were calculated for each muscle activity. The lowest the difference obtained in seconds with respect to the reference values, the greater the quality guarantee of the detection method.

2.3. Data normalization

In order to compare the muscle activity patterns, time normalization is needed to bring all signal to an equivalent duration with the same samples number. The signal with the greater duration between its onset and offset is taken as the reference.

The reference duration is the maximal number of samples comprehended between onset and offset of all the signals, multiplied by original sampling period. This duration will be fixed, and the new sampling frequency for each attempt is calculated dividing it by the number of sample between each onset-offset instant of each attempt. The ratio of resampling is calculated as the division between the new desired frequency and the original one, and if it is greater than 1, the attempt signal is interpolated to achieve the same duration than the reference one.

The amplitude normalization has been based on the peak muscle activity of each attempt and for each muscle during the reaching and grasping movement [4]. Taking this value as the reference one for each muscle and attempt, all the values have been rescaled from 0 to 1.

2.4. Muscle variability

Amplitude and time normalized signals were transformed as the percentage of the total muscle activity, ranging from 0 to 100. Normalized signals of the specific muscle activity were studied to report to compare activity and energy between attempts.

Due to the burst distribution of the signals, different envelopes were tested. These envelopes were obtained as an interpolation of the signal between a finite number of samples. The greater the number of samples used the greater the smoothing effect.

In order to obtain a visual activity pattern during the total activity of each muscle, we calculated an envelope over the local maximums. High number of samples were selected for smoothing the signal until that level. The mean pattern and SD was calculated, for the five muscles involved individually. This method reports the variability of the activation pattern. The greater the standard deviation in determined areas, the lowest the synchronicity between attempts and the stability of the pattern.

A most adjusted envelope of the normalized signal, with much less number of samples used between the interpolation steps, was used to calculate the energy of each signal, as the numerical integral under the curve. It has been also calculated the mean and the standard deviation of this accumulative normalized energy for each muscle. An important parameter is the center of gravity, defined as the point in which the muscle achieves the 50% value of its total energy.

2.5. Muscles temporal synchronization

The onset of the reaching and grasping cycle was defined by the onset of the biceps activity, because it is considered that the movement starts when the animal lifted the paw. The offset was defined as the offset of the digit flexor, when the animal gripped the pellet and took it to the mouth. The cycle absolute duration comprehends the time during the onset and offset, which has been transferred to the five muscles involve to have a unique time duration. Once the time domain was transformed into percentage, the latency between the onset of the movement and the onset of each muscle, in percentage of the cycle, was calculated. These values offer a sequential distribution perspective of the activation of each muscle and synchronization between them.

3. Results

3.1. Onset and offset methods comparison

For each signal the difference in seconds between the values of the onset and offset results was calculated with both methods and the referenced value.

The results obtained by multiplying the SD of a fix baseline $\times 2$, are shown in table 1. Other higher multiplicative factors were also tested and are not shown. The second column shows for the onset and for the offset, the percentage factor (in brackets) of the max peak, which with we obtained the lowest mean \pm SD difference to the reference values.

We conclude that the best threshold method to calculate the onset and the offset is based on the percentage of the max peak analysis. In addition, we have shown that each individual muscle, both the onset and offset, will have a specific percentage factor. Therefore, the algorithm is very adapted to the needs of each signal type.

		MEAN+2*SD	%AXPEAK
BICEPS	ON	48.3 ± 77.7	18.2 ± 56.2 (5%)
	OFF	157.8 ± 115.7	4.7 ± 11.2 (25%)
DELTOID	ON	23.5 ± 24.6	3.2 ± 5.1 (5%)
	OFF	125.3 ± 190.5	4.8 ± 7.1 (10%)
PRONATOR	ON	36.7 ± 27.1	5.6 ± 17 (5%)
	OFF	296.4 ± 137.5	66.9 ± 70.9 (25%)
EXTENSOR	ON	119.8 ± 73.3	9.4 ± 13.5 (10%)
	OFF	168.1 ± 113.5	44.3 ± 34 (15%)
FLEXOR	ON	171.7 ± 95.2	16.1 ± 23.3 (15%)
	OFF	39.6 ± 48.6	11.7 ± 43.5 (15%)

Table 1. Results of the methodology employed to calculate the onset and the offset; based on SD analysis (left column) and percentage of the max peak (right column). The values indicate the difference, in milliseconds, between each instant obtained with both methods and the reference value, which was manually annotated.

3.2. Muscle variability

We identified two envelopes: 1) the first is aimed to present a smooth envelop which surfs the local max peaks, offering an easy visual representation of the muscle activity pattern over time; 2) a second envelop was used to calculate the energy beneath the curve. For this reason, an envelope which reliably adjusted to the signal morphology, avoiding excess information due to the interpolation.

The upper row in figure 3 shows the mean ± SD pattern of muscle activity, using the smoothest envelope. Note the muscle's behavior repeatability between attempts is higher in the areas with the low SD. The lower panel of figure 3 shows the normalized accumulative muscle energy using the most adjusted envelope. It is another indicator of the level of activity of that muscle along its total activation time.

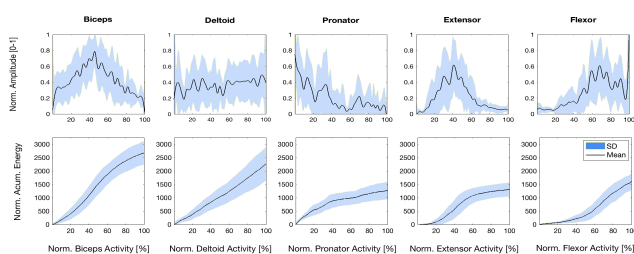


Figure 3. Muscle activity patterns and their accumulative energy curves along their total local activation in percentage.

The center of gravity of each muscle was calculated as the mid value of their total accumulated energy (table 2). It gives an idea on the dispersion and density of the individual muscle activity.

	Biceps	Deltoid	Pronator	Extensor	Flexor
Mean±SD (%)	46 ± 8	55 ± 11	26 ± 11	42 ± 9	69 ± 9

Table 2. Localization of the center of gravity at the local muscle activity in percentage.

Figure 4 shows the efficacy of the methodology designed and employed to calculate the onset and offset (locally and globally), and the extrapolation of the center of gravity (locally) to the raw data.

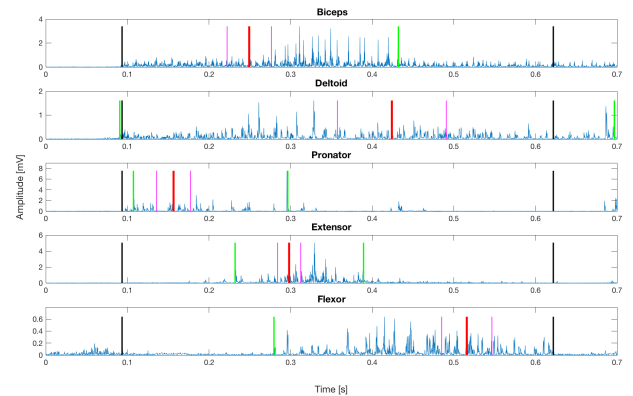


Figure 4. Raw data from a single reaching and grasping movement. Green: local onset and offset temporal marks. Black: onset and offset temporal marks of the reaching and grasping cycle. These temporal marks have been calculated after applying to each muscle the percentage of the maximum peak, which calculated mean results in the smallest difference with the reference values (see Table 1). The center of gravity percentage (Table 2) has been extrapolated to the local muscle activity on the raw data. Magenta: position of the center of gravity. Red: SD of the center of gravity.

3.3. Muscles temporal synchronization

We have calculated for each attempt the latency between the onset of the biceps, equivalent to the onset of the movement, and the onset of the individual muscle, and presented as the percentage of the total reaching and grasping cycle. The digit Extensor and flexor muscles shows a clear sequential activation following the most proximal Deltoid, biceps and pronator muscles.

	Deltoid	Pronator	Extensor	Flexor
Mean ± SD (%)	-4 ± 3	-3 ± 5	25 ± 10	38 ± 11

Table 3. The Latency of the onset for each muscle, presented as the percentage within the total cycle. Note, that in some muscles, the mean may be negative, indicating that the onset of that muscle may precede the beginning of the biceps activity.

4. Discussion

It has been designed and implemented novel MATLAB algorithms to analysis a large data set of raw EMG data obtained from the forelimbs muscles of a rat while was performing reaching and grasping. So far, the results have evidenced a clear spatial-temporal pattern of muscle recruitment, which corroborates the original hypothesis. It further, opens the development of a wider set of mathematical tools to analyze in depth the function of the central nervous system controlling skilled hand function.

The first objective has been to determine the onset and offset of the muscle activity for each individual muscle at each individual attempt. Two threshold methods have been tested: The first method defines the threshold as the mean of the baseline plus a multiplicative factor of the SD of a fix baseline for all the signals. The second method uses, for each attempt, the maximum amplitude peak multiplied by a % factor to define the threshold.

Due to the manual cutting the fix baseline selected usually takes part of the muscle activity. If it takes a part of the signal with a large range of values and it is multiplied by a factor, it is very usual that the algorithm does not find a value that overcome the threshold and no value is reported. In the case the baseline selected no contains muscles activity the values are very close to zero and it is needed very high SD multiplication factor to obtain values near the reference one. Both problems report error of the algorithm and it is not possible to calculate at the same time for all the attempts for many possibilities. For that reason, only one factor value is tested (as shown in table 1).

On the other hand, the second approach uses each maximum attempt amplitude peak, and defines the threshold as a proportion of it. In this case, it does not dependent on a fix baseline value nor on the manual cutting of the signals. Both methods have been compared against the reference markers, and the method based on a proportion of the amplitude is the one with closest results to the manual annotated values. This method has been used for the rest of the study.

Due to the burst distribution of the EMG signal, envelopes with more or less smoothing have been used to obtained patterns and study the muscle variability. Clear pattern is observable during the total activity of each muscle. Less variability is traduced in more similarity between signals and more determinist behavior although the stochastic nature of the signals. The different muscle activity patterns are also reflected on their accumulative normalized energy behavior and the center of gravity.

4.1. Limitations

Although 17 attempts have been analyzed, they all belong to the same animal and were recorded in separate days. Unfortunately, due to this low number, the conclusions must be taken with caution and interpreted as preliminary. Nevertheless, the consistency of the patterns obtained, and the visual examination of recording from other animals, suggest a wider analysis will reach the same conclusions.

The data recording procedure has shown several signs, which has diffculted the EMG analysis, especially for identifying the onset and off set data points. These should be taken in account when future electromyography laboratories are design. First, the visual examination of the EMG raw signals to identify the onset and off set data points was difficult. On one hand, the use of low video frame recording (30Hz) limits the synchronicity between the forelimb movement and EMG data. In addition, the lack of kinematical markers further unable the precise correlation between the forelimb articulation's movement, due to specific muscle activation, and the EMG data.

4.2. Future directions

It is imperative to increase the number of animals' analysis. Measuring the inter-individual variability will be necessary to accept the conclusion and the validity of the tools used.

It will be necessary to analyze those failed attempts and to correlate the differences in the EMG activity pattern and the behavioral mistake with the healthy. The differences, if any, will strongly evidence the fine relationship between muscles activity. The EMG of animals with selective injuries to the brain or the spinal cord will give precious information on the role of the brain to spinal pathways controlling arm and hand function, and the putative hierarchical role between the different muscles on manual dexterity. Within the signal analysis, further explorations are needed on the design of activity heat maps to illustrate the results obtained. The next step is the frequential study, that can give us relevant information about the MUAPs type recruitment and on the nature of the spinal networks that are active during the performance of this motor task.

5. Conclusion

In this study, mathematical algorithms have been developed in MATLAB environment to study in detail raw EMG data from a healthy animal while performing voluntarily a fine motor task. The analysis has focused firstly on the definition of the onset and offset of each muscle to normalize their activity during the reaching and grasping cycle. The activity pattern has allowed us to evaluate the muscles repeatability. The accumulative energy has been also calculated for each muscle along the cycle, as well as the center of gravity. By comparing each muscle center of gravity, we can conclude the temporal and synchronized recruitment of the distal muscles for efficiently reaching and grasping a pellet. The methodology tested opens a new venue to analyze forelimb EMG data in rodents and to study the brain and spinal cord function in heath and disease.

6. References

- [1] B. Alstermark and T. Isa, 'Circuits for Skilled Reaching and Grasping', *Annu. Rev. Neurosci.*, vol. 35, no. 1, pp. 559–578, Jul. 2012.
- [2] M. Alam *et al.*, 'Electrical neuromodulation of the cervical spinal cord facilitates forelimb skilled function recovery in spinal cord injured rats', 2017.
- [3] A. S. Lee, J. Cholewicki, and N. P. Reeves, 'The effect of background muscle activity on computerized detection of sEMG onset and offset.', *J. Biomech.*, vol. 40, no. 15, pp. 3521–6, 2007.
- [4] M. Halaki and K. Gi, 'Normalization of EMG Signals: To Normalize or Not to Normalize and What to Normalize to?', *Comput. Intell. Electromyogr. Anal. - A Perspect. Curr. Appl. Futur. Challenges*, 2012.

Impresión 3D en el Sistema Sanitario: Una revolución a medida

RUBÉN GARCÍA FERNÁNDEZ¹, INÉS GALLEGO CAMIÑA¹, RAQUEL BENITO RUIZ DE LA PEÑA¹, OLIVIA MARIA RODRIGUEZ SAN VICENTE², AINHOA GANDIAGA MANDIOLA², LUIS ANGEL RUBIO ROMERO², LUIS BARBIER HERRERO³, ROBERTO VOCES SÁNCHEZ⁴, M CARMEN PRADO FERNANDEZ⁵

¹ Unidad de Innovación, OSI EECruces/ IIS Biocruces, Barakaldo, España

² Servicio de Radiología, OSI EECruces, Barakaldo, España

³ Servicio de Cirugía Maxilofacial, OSI EECruces, Barakaldo, España

⁴ Servicio de Cardiología, OSI EECruces, Barakaldo, España

⁵ Servicio de Cirugía Pediátrica, OSI EECruces, Barakaldo, España

Resumen

La Impresión 3D ya es conocida como la nueva revolución Industrial. Múltiples soluciones son aplicables en el ámbito sanitario, pero su implementación en la práctica clínica diaria es compleja debido a que requiere de un cambio de procesos, además de una capacitación de los profesionales.

En este trabajo se explica la experiencia de la Organización Sanitaria Integrada Organización Sanitaria Integrada Ezkerraldea Enkarterri Cruces (OSI EEE) y el Instituto de Investigación Sanitaria Biocruces (IISBC) en relación a la implantación de la tecnología de impresión 3D en la práctica sanitaria.

El resultado es la creación de un servicio interno en el que han participado 31 profesionales diferentes de 10 Servicios distintos, realizando 31 modelos 3D durante el periodo de 1 año. Estos modelos han sido utilizados para la planificación prequirúrgica, el entrenamiento, la docencia, el apoyo durante la intervención y/o la explicación a paciente.

La medición del impacto del proyecto se ha realizado a través de encuestas de satisfacción a los profesionales.

1. Motivación

El uso de la impresión 3D en medicina es creciente. La implementación de la impresión 3D en cirugía ha aumentado exponencialmente, tanto si nos fijamos en el su cuota de mercado, alcanzando un valor de unos 250 millones de euros en 2016 [1], como en la relación del número de publicaciones realizadas en los últimos 10 años [2]. Este crecimiento es el resultado de su importante utilidad, así como de una amplia gama de aplicaciones potenciales para la impresión 3D. En este sentido, la disminución del coste de la propia tecnología también ha favorecido su impulso.

Su uso en la medicina es muy diverso. Entre los servicios clínicos más proclives al uso de la Impresión 3D se encuentran: Maxilofacial, Cardiotorácica, Traumatología y Neurocirugía entre otros [3]. En cuanto a la aplicabilidad de la Impresión 3D en los diferentes Servicios, los estudios suelen referirse a guías quirúrgicas (60%) y modelos de planificación quirúrgica o biomodelos (38,70%) [3].

Los Biomodelos son réplicas de las estructuras anatómicas de los pacientes, fabricadas en diferentes materiales. Se obtienen a partir de imágenes médicas

tomadas al paciente mediante TAC (Tomografía axial computarizada) o MRI (Imagen por resonancia magnética). A partir de estos modelos digitales en formato DICOM (Digital Imaging and Communication in Medicine), y una vez realizado un trabajo de segmentación y tratamiento del modelo digital, se pueden transformar en modelos imprimibles por impresoras 3D para poder imprimir réplicas exactas de la anatomía del paciente. Los modelos pueden reproducirse tridimensionalmente en plástico o resina: huesos y tejidos blandos, incluso los propios tumores que se han desarrollado en ellos, de manera que el cirujano, antes de empezar a operar, visualiza claramente lo que se va a encontrar y puede planificar mejor su actuación.

En cuanto a las Guías Quirúrgicas: son plantillas ancladas en puntos de referencia como huesos o dientes dirigen al cirujano para insertar tornillos, realizar cortes, instalar implantes o realizar punciones. Su desarrollo se realiza a través del diseño digital a partir de los biomodelos obtenidos de la manera indicada anteriormente.

Para el desarrollo de estos biomodelos y guías, son múltiples las tecnologías de Fabricación Aditiva que existen: Selective Laser Sintering (SLS), Material Jetting (Polyjet) o Fused Deposition Modeling (FDM).

En España son varios los Hospitales que están trabajando con la idea de implementar la tecnología de impresión 3D, de acuerdo con el artículo escrito el pasado 17 de Julio de 2017 en el Diario Médico [5]. Como se detalla en el artículo, la impresión 3D en los hospitales deja de ser una anécdota y empieza a exigir protocolos para atender a mayor demanda. Como se indica en el artículo, el reto que nos queda por delante es protocolizar y sistematizar la demanda. Para ello se requiere de la coordinación de varias especialidades, y la exploración y validación de los diferentes “productos”.

Con la motivación de conseguir implementar y consolidar la tecnología en el Sistema Sanitario Vasco (Osakidetza), y en particular de su Organización Sanitaria Integrada Ezkerraldea Enkarterri Cruces (OSI EEE), en el Hospital de Cruces, en el año 2015 se inicia este proyecto promovido por la Unidad de Innovación de la OSIEEC y el IIS Biocruces (IISBC).

2. Objetivos

El objetivo final del proyecto reside en implementar la Impresión 3D como herramienta de apoyo en la práctica clínica habitual del Sistema Sanitario Vasco (Osakidetza) y en particular de su Organización Sanitaria Integrada Euzkerralde Enkarterri Cruces (OSI EEE), en el Hospital de Cruces.

El proyecto se centrará en las soluciones de mayor potencialidad, tal y como se ha descrito en el anterior apartado (1. Motivación): Biomodelos y Guías Quirúrgicas.

Conseguir romper las barreras tecnológicas y acercar estas nuevas herramientas a todos los profesionales clínicos nos plantea un objetivo en paralelo: Obtener nuevas soluciones o “productos” en los diferentes servicios, así como explorar utilidades en nuevos servicios clínicos.

3. Materiales y método

3.1. Temporización y fases del proyecto

El proyecto se inicia a mediados del año 2015. De acuerdo a la estrategia de Innovación de la OSI EEC y el IISBC, se realiza una sesión de difusión en el Salón de Actos relacionada con la Impresión 3D, seguida de una sesión interna de contraste con diferentes servicios hospitalarios. Se identifican 3 líneas de trabajo: Modelos 3D para la preparación de cirugías; Modelos 3D para órtesis orientadas a la rehabilitación; Scaffolds o estructuras destinadas al estudio del comportamiento celular (Investigación).

Realizado un análisis de las diferentes tecnologías de fabricación aditiva existentes, se llevaron a cabo las primeras pruebas de concepto en diferentes servicios, con la idea de validar si lo que nos ofrecía la tecnología se acercaba a las necesidades de los clínicos. Se imprimieron diferentes biomodelos: Mandíbula para la preparación de cirugías en el Servicio de Cirugía Pediátrica; Tumor y vascularización para la preparación de cirugía en el Servicio de Cirugía Pediátrica; Columna para la preparación quirúrgica en el Servicio de Traumatología; Tráquea para estudio de investigación; Mandíbula para la preparación quirúrgica en el servicio de Cirugía Maxilofacial. Con estas pruebas de concepto, pudimos verificar que la tecnología aportaba valor a los profesionales clínicos, y que se ajustaba a las necesidades. A partir de aquí se plantea una estructura que pudiera ofrecer el desarrollo de biomodelos 3D de manera interna y sostenible. Para ello se realizaron los siguientes pasos:

- Se realizó formación específica dirigida a diferentes servicios. Se realizaron 2 talleres de formación en los que participaron 30 profesionales de 7 servicios diferentes. El objetivo de estas formaciones era dar a conocer la tecnología, el proceso y los recursos para llevar a cabo los biomodelos 3D.

- Se involucraron en el proyecto a los agentes clave. Se creó un equipo multidisciplinar junto con Radiólogos, Cirujanos e Ingeniero Biomédico de la Unidad de Innovación. En este caso el papel de Radiólogo se

considera vital, ya que es la persona capaz de entender la necesidad clínica y desarrollar un modelo tridimensional a partir de la imagen. También es importante su visión en cuanto a los protocolos de adquisición de imagen a través de TAC o RMN.

- Se instalaron las herramientas requeridas para generación de biomodelos destinados a Impresión 3D en las estaciones de trabajo de Radiología. El procedimiento parte de la segmentación de la imagen médica desde Radiología, así como la generación de un archivo *standard triangle language* (STL). La limpieza y posterior impresión de este archivo STL se realizaría desde la Unidad de Innovación.

- En paralelo se realizó la compra de una Impresora 3D doméstica, de tecnología FDM, en este caso el modelo Ultimaker 2+, y se desarrolló una plataforma para la solicitud de modelos. Esta plataforma consiste en un cuestionario ubicado en la red interna de Osakidetza (Intranet) a partir del cual el cirujano indica el caso a realizar y el objetivo del mismo.

- En paralelo al desarrollo de los diferentes biomodelos y guías se consideró importante la difusión del conocimiento y de los desarrollos realizados. En este sentido se concretaron varias actividades de difusión de la iniciativa, tanto en programas de televisión [6] o en prensa escrita [7].

3.2. Proceso de solicitud de modelos 3D

El proceso de solicitud de modelos 3D en la OSI EEC quedó definido de la siguiente forma:

- Solicitud por parte del clínico a través de la Intranet.

- Recibo de aviso de solicitud al email de los miembros del equipo (Unidad de Innovación + Radiología).

- Derivación del caso en función del tipo de solicitud (producto sanitario o modelo experimental).

- Segmentación de la imagen y generación de archivo STL imprimible.

- El archivo segmentado se cuelga en la propia Intranet de manera que el equipo recibe un aviso de que está realizado.

- Desde la Unidad de Innovación se limpia el archivo a través del software *Meshmixer* y se prepara para su impresión 3D a través del software *Cura*.

- La impresión 3D del caso se realiza desde la Unidad de Innovación a través de la impresora Ultimaker 2+.

- Se remite una encuesta de valoración al clínico a través de la cual evaluar el biomodelo así como el proceso.

3.3. Evaluación del proyecto

Para la evaluación del proyecto se realizó una encuesta de satisfacción de los solicitantes de los modelos 3D. En dicha encuesta se evaluaron mediante una escala Likert 1(poco) – 5 (mucho) las siguientes dimensiones sobre el modelo 3D: me permite personalizar y adaptar el tratamiento a cada paciente, me facilita la explicación de la intervención al paciente, me permite el entrenamiento

y/o preparación quirúrgica, me facilita el abordaje de la intervención, me ofrece una mayor seguridad al paciente de cara a la intervención, me supone un ahorro de tiempos de cara al abordaje de la cirugía y creo que es una herramienta útil a incluir en la práctica clínica habitual.

4. Resultados

En un año (Octubre 2016 - Octubre 2017) se han recibido 31 solicitudes de 10 servicios clínicos distintos. Estas solicitudes las han realizado 19 cirujanos, y en el proyecto han colaborado 11 radiólogos además de un Ingeniero Biomédico de la Unidad de Innovación.

La mayoría de las soluciones se relacionan con Biomodelos para la preparación quirúrgica en Cirugía Maxilofacial, Cirugía Pediátrica o Traumatología, aunque también se desarrollaron guías a medida para patologías complejas en Cirugía Maxilofacial. Entre las solicitudes además se detectaron nuevas utilidades, como por ejemplo aplicaciones para grandes quemados u hospitalización a domicilio. Todas ellas se describen en la siguiente tabla:

Servicio	Utilidad del modelo
C.Pediátr.	Modelo de Fisura palatina para preparación quirúrgica, entrenamiento, docencia y comunicación con paciente. (Ver Figura 1)
C.Pediátr.	Modelo de Fisura palatina para preparación quirúrgica, entrenamiento, docencia y comunicación con paciente.
Hospi. a Dom.	Impresión de modelos de Úlceras para la evaluación de la precisión de sensores 3D comerciales.
Maxilo.	Modelo para la preparación Quirúrgica y herramienta de apoyo. El modelo se utilizó con base para el preconformado de una placa de titanio que ahorra alrededor de un 30% de tiempos en quirófano.
Cardiología	Modelo para la preparación Quirúrgica. Modelo utilizado para la validación de talla de una válvula CIV.
Maxilo.	Modelo para la preparación Quirúrgica. Paciente al que se le realizó ostotomía.
Neurología	Guía de punción para la infiltración con Toxina Botulínica del músculo pterigoideo, para tratamiento de una distonía oromandibular de lateralidad grave. (Ver Figura 2)
Maxilo.	Modelo para la preparación Quirúrgica. Paciente al que se le realizó ostotomía.
C. General	Impresión a 3 colores de un hígado con un tumor asociado. El biomodelo sirvió para la preparación quirúrgica. (Ver Figura 3)
C.Plástica (Grandes Quemados)	Máscara obtenida a partir de un escaneado de la cara de la paciente. Permite una compresión sobre las vendas, actuando como efecto terapéutico sobre las cicatrices producidas por el injerto de piel nueva. (Ver Figura 3)
Radiofísica	Fabricación de fantomas para la medición de dosis en los aceleradores.
Trauma.	Ligamentoplastia LCA fallida, análisis de túneles sobre el modelo. Preparación quirúrgica.
Maxilo.	Modelo para el guiado en operación a través de un dispositivo customizado que permitía una mayor precisión en el fresado del hueso para la extracción de un diente ectópico.
Trauma.	Modelo para la preparación quirúrgica en paciente con malformación de columna.
Neonato.	Diseño de un cacito medida específico para el cálculo de suplementos para la nutrición de RNMBPN.
Trauma.	Ligamentoplastia LCA fallida, análisis de túneles sobre el modelo. Preparación quirúrgica.
Maxilo.	Biomodelo para entrenamiento quirúrgico y docencia. Pacientes a los que se les realizan osteotomías. (3 casos diferentes seguidos)
Maxilo.	Biomodelo para abordaje quirúrgico; Biomodelo para docencia; Herramientas de guiado/apoyo en intervención
Cardiología	Modelo para la preparación quirúrgica en paciente con miocardiopatía hipertrofica obstructiva. (Ver Figura 1)
Maxilo.	Biomodelo para el entrenamiento y docencia. Paciente al que se le realizará osteotomía. (4 casos diferentes seguidos)
Cardiología	Biomodelos para la preparación quirúrgica en paciente con miocardiopatía hipertrofica obstructiva. (2 casos diferentes seguidos)
Maxilo.	Biomodelo para el abordaje quirúrgico en pacientes a los que se les realizaba osteotomías. (2 casos diferentes seguidos)

Tabla 1. Modelos 3D impresos (Desde Octubre de 2016 a Octubre de 2017)



Figura 1. A la izquierda biomodelo de fisura palatina para la explicación a paciente en el Servicio de Cirugía Pediátrica. A la derecha modelo de corazón utilizado en Quirófano de Cardiología de la OSI EECruces.



Figura 2. Guía de punción para la infiltración de Toxina Botulínica en el servicio de Neurología de la OSI EECruces.



Figura 3. A la izquierda modelo de Hígado para la preparación quirúrgica en el Servicio de Cirugía Hepática (General). A la derecha Máscara para grandes Quemados.

Como muestran los resultados el servicio clínico más activo en el uso de la impresión 3D es el servicio de Cirugía Maxilofacial, seguido de Cardiología, Traumatología y Cirugía Maxilofacial. Estos resultados se resumen en la Tabla 2.

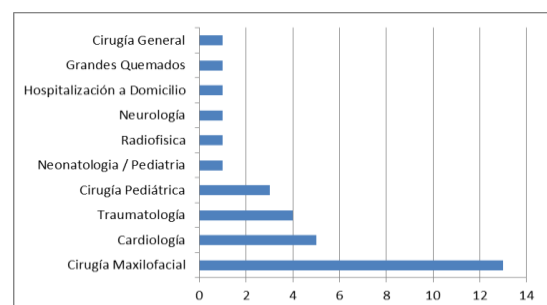


Tabla 2. Relación del número de modelos 3D impresos por cada Servicio Clínico.

En cuanto a las valoraciones a través de la encuesta de satisfacción en relación a la utilidad de los diferentes modelos. Han podido analizarse 10 modelos diferentes en los que se ha concluido: Permiten personalizar y adaptar el tratamiento a cada paciente (Con una valoración de 4,7 sobre 5); Facilitan la explicación de la intervención al paciente (Con una valoración de 4,3 sobre 5); Permiten el entrenamiento y/o preparación quirúrgica (Con una valoración de 4,6 sobre 5); Facilitan el abordaje de la

intervención (Con una valoración de 4,6 sobre 5); Aportan una mayor confianza de cara a la intervención. (Con una valoración de 4,8 sobre 5). Estos resultados se resumen en la siguiente tabla:



Tabla 3. Resultados de satisfacción de los solicitantes de los modelos 3D. Evaluación mediante escala Likert 1(poco) – 5 (mucho).

A través de esta encuesta hemos podido comprobar que cada uno de estos 10 modelos evaluados ha sido utilizado de maneras diferentes, siendo en muchos casos utilizado como herramienta de apoyo en el abordaje de la intervención y a su vez como herramienta de entrenamiento. En algunos casos el modelo ha sido utilizado además para la docencia o la comunicación con el paciente.

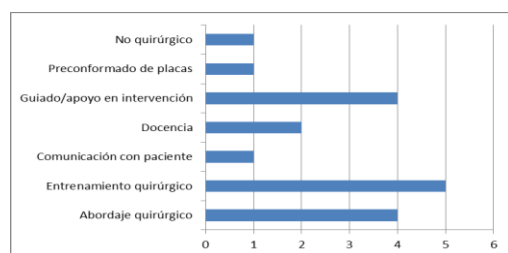


Tabla 4. Número de modelos que han sido empleados en cada tipo de uso. Los resultados que se muestran en la tabla hacen referencia a los 10 modelos evaluados.

5. Conclusiones y Discusión

A través de este proyecto hemos podido comprobar que la Impresión 3D tiene un gran impacto en la medicina. El acercar la tecnología a los profesionales sanitarios nos ha permitido recibir 31 peticiones de 10 servicios clínicos distintos. Además, la evaluación de los diferentes modelos a través de encuestas a los clínicos, refleja que la tecnología nos permite responder a las políticas de los sistemas sanitarios, y en este caso de Osakidetza, en diferentes escenarios:

Medicina personalizada

La Impresión 3D permite al cirujano preparar la cirugía. Esto provoca un cambio de procesos: evitar la “improvisación” en quirófano, promoviendo que el profesional médico evalúe y ensaye el caso antes la intervención, “operar antes de operar” a cada paciente.

La tecnología permite además desarrollar placas, implantes, herramientas de apoyo personalizadas; que se adaptan exclusivamente a cada paciente.

Seguridad Clínica

Los modelos 3D permiten dotar al clínico de una herramienta con la que tener un guiado preciso en la intervención. Hasta ahora, en muchas de las diferentes técnicas quirúrgicas se depende en gran medida de la pericia del profesional. La tecnología nos permite realizar técnicas cirujano-independientes y evitar la variabilidad clínica.

Experiencia de Paciente

Los modelos 3D nos permiten explicar al paciente a través de su propio modelo. Un conocimiento profundo y directo provoca una menor incertidumbre y tranquilidad de cara a la intervención, tanto para el paciente como para el profesional. Las herramientas facilitan la comunicación y explicación, mejorando el servicio que se le ofrece al paciente.

Referencias

- [1] Página web de la consultora Future Market Insights: 3D Printed Medical Devices Market: Global Industry Analysis and Opportunity Assessment, 2016–2026. <https://www.futuremarketinsights.com/reports/3d-Printed-medical-devices-market> (Consultada: Octubre 2017).
- [2] Hoang D, Perrault D, Stevanovic M, Ghiassi A. Surgical applications of three-dimensional printing: a review of the current literature & how to get started. *Annals of Translational Medicine*, Vol 4, No 23, 2016.
- [3] Hammad H. Malik, Alastair R.J. Darwood, Shalin Shaunak, Priyantha Kulatilake, Abdulrahman A. El-Hilly, Omar Mulki, Aroon Baskaradas. Three-dimensional printing in surgery: a review of current surgical applications. *Journal of Surgical Research*, vol 199, Issue 2, 2015, pp 512-522.
- [4] Mitsouras D, Liacouras P, Imanzadeh A, Giannopoulos AA, Cai T, Kumamaru KK, George E, Wake N, Caterson EJ, Pomahac B, Ho VB, Grant GT, Rybicki FJ. Medical 3D Printing for the Radiologist. *Radiographics*, vol 35, Issue 7, 2015.
- [5] Página web del Diario Médico: <http://www.diariomedico.com/2017/07/17/area-cientifica/especialidades/biotecnologia/actualidad/imprimir-la-enfermedad-una-solucion-a-medida> (Consultada: Octubre 2017).
- [6] Página web del canal de radio Televisión Vasca EITB: <http://www.eitb.eus/es/television/programas/teknopolis/vidEOS/detalle/3991842/video-cirujias-apoyadas-impresoras-3d/> (Consultada: Octubre 2017).
- [7] Página web del periódico vasco Berria: http://www.berria.eus/paperekoa/1827/046/001/2016-06-04/3d_medikuntza_iraultzeaz.htm (Consultada: Octubre 2017).

App móvil para el seguimiento continuo de la hipertensión y mejora de la adherencia al tratamiento.

A. De Ramón Fernández¹, D. Ruiz Fernández¹, D. Marcos Jorquera¹, V. Gilart Iglesias¹,
V. Vives Boix¹, A. Sanjuan Quiles²

¹ Departamento de Tecnología Informática y Computación, Universidad de Alicante, San Vicente del Raspeig, España, {aderamon, drui, dmarcos, vgilart, vvives}@dtic.ua.es

² Departamento de Enfermería, Universidad de Alicante, San Vicente del Raspeig, España, angela.sanjuan@ua.es

Resumen

La gestión y tratamiento de las enfermedades crónicas y más concretamente de la hipertensión, supone un auténtico desafío para las autoridades sanitarias. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), uno de cada cinco adultos en todo el mundo tiene niveles de presión arterial elevados y esto está directamente relacionado con la mitad de las muertes causadas por infarto o cualquier otro tipo de enfermedad cardíaca. Un adecuado seguimiento de los niveles de presión arterial y cambios en el estilo de vida puede ayudar a reducir y prevenir los riesgos de esta enfermedad. En este estudio, se presenta una app móvil que permite, a través de dispositivos inalámbricos, la integración de información clínica relevante para la autogestión de la hipertensión por parte del paciente. El objetivo principal es conseguir que el paciente se implique de forma activa en el seguimiento de su enfermedad, mejorando su empoderamiento y personalizando un tratamiento que mejore su adherencia al mismo y su calidad de vida.

superadas. Debido a restricciones presupuestarias, en muchos sistemas públicos de salud el tiempo de atención que el médico puede prestar al paciente es limitado. Esto puede provocar que el paciente se sienta frustrado al ver limitado su tiempo de consulta, percibiendo una equivocada sensación de desinterés por parte del facultativo. Aunque un médico dispone de los conocimientos suficientes para el tratamiento de la enfermedad, a menudo no disponen de los recursos necesarios ni del tiempo adecuado para adaptar un tratamiento totalmente personalizado a cada paciente.

En este artículo se presenta una app móvil para la monitorización de la hipertensión, buscando mejorar el empoderamiento y la adherencia al tratamiento por parte del paciente mediante la personalización de recomendaciones.

1. Introducción y objetivo

La hipertensión es una enfermedad de naturaleza crónica que causa anualmente 9,4 millones de muertes en todo el mundo, más del 50% de todas las muertes provocadas por enfermedades cardiovasculares [1]. En España, más de un 86% de la población mayor de 65 años padece esta patología [2]. La hipertensión requiere un continuo seguimiento por parte del paciente para prevenir y controlar sus efectos. El tratamiento de esta enfermedad incluye tanto tratamiento farmacológico como recomendaciones para conseguir un estilo de vida saludable, evitando situaciones de estrés [3]. Sin embargo, como en la mayoría de las enfermedades crónicas, la adherencia al tratamiento por parte del paciente suele ser baja.

A pesar de la importancia de seguir el tratamiento y las recomendaciones propuestas, muchos pacientes se olvidan de su cumplimiento, principalmente porque tienen una sensación aparente de buena salud [4].

Existen otros factores de distinta índole que puedan afectar al cumplimiento del tratamiento y recomendaciones indicadas, como puede ser una interpretación errónea de los prospectos, mala relación médico-paciente [5] o simple rechazo hacia al colectivo médico [6].

Por otra parte, el proceso clínico actual de hipertensión presenta algunas debilidades o deficiencias que deben ser

2. Estado del arte

En la actualidad, existen distintos factores a considerar para controlar la hipertensión [7] y diferentes aplicaciones de e-Health diseñadas con este objetivo. Un estudio elaborado en 2013 [8] evidenció una mejora de la adherencia del tratamiento en seguimientos realizados a través de aplicaciones de salud para dispositivos móviles (mHealth) y más concretamente para enfermos de hipertensión. Recientemente, distintos estudios han reforzado esta tesis, como se muestra en [9], donde se consiguió mejorar la adherencia al tratamiento de los pacientes hasta un 76% utilizando una aplicación móvil que realizaba la planificación y evaluación de todas las fases del proceso clínico. Otras aplicaciones de reciente aparición [10,11] han demostrado ser igualmente efectivas para el mismo propósito. Estas aplicaciones persiguen mejorar la adherencia a través de una mayor implicación del paciente. En ambas aplicaciones, es el paciente el que se encarga de proporcionar sus datos de presión arterial, así como de responder a preguntas relativas a su estilo de vida, hábitos, etc. Un sistema programado de alertas sirve para enviar recordatorios al paciente para facilitar el seguimiento del tratamiento. Los resultados obtenidos demostraron que estas apps resultaron eficaces a la hora de aumentar la participación de los pacientes e incrementar su motivación para seguir el tratamiento. Además, la posibilidad de los pacientes de vincular los valores de la presión arterial a situaciones específicas de sus rutinas

diarias suponía una mejor comprensión de la relación entre los niveles de presión arterial y el estilo de vida, factor clave para mejorar la calidad de la prevención y atención de la hipertensión.

Por último, el estudio aportado por Banerjee [12], demuestra como la autogestión de los pacientes se tradujo en una reducción de las visitas a los centros de atención primaria. A través de una app móvil, los pacientes introducían sus valores de presión arterial. A continuación, la aplicación validaba los datos introducidos, y el personal sanitario se encargaba de proponer un tratamiento y de actualizar la medicación necesaria. El paciente aceptaba o rechazaba el tratamiento desde su dispositivo móvil y continuaba enviando sus valores de presión arterial. De esta forma, se conseguía reducir las visitas al centro médico y el coste asociado a ellas.

Sin embargo, en todas las aplicaciones descritas anteriormente el paciente debe introducir manualmente sus datos de presión arterial, estilo de vida y cualquier otra información de interés, sirviéndose en algunos casos de recordatorios para evitar que el seguimiento fracase. Esto puede suponer una limitación sobre todo para aquellos pacientes menos acostumbrados al uso de las nuevas tecnologías.

Con el objetivo de superar esta limitación, esta app se ha desarrollado empleando dispositivos de medición con tecnología Bluetooth que permite la recogida y el almacenamiento automático de los datos, facilitando así la toma de datos y evitando problemas de medidas erróneas, registros duplicados, etc. De esta manera se consigue un seguimiento integral del paciente monitorizando de forma continua distintos parámetros de interés para la gestión de la enfermedad.

3. Propuesta

La app desarrollada permite la recogida de información clínica relevante para el tratamiento de la hipertensión a través de distintos dispositivos con tecnología Bluetooth: una pulsera de actividad, una báscula digital y un tensiómetro que proporcionan información relativa a la actividad física, el peso y la tensión, respectivamente. En la tabla 1 y en la figura 1 se encuentran recogidos todos los dispositivos empleados para la toma de datos.

Marca	Modelo	Comunicación	Dispositivos
A&D Medicals	A-767PBT-Ci	Bluetooth	Tensiómetro
Xiaomi	My Band	Bluetooth	Pulsera de actividad
A&D Medicals	AD-6121A	Bluetooth	Báscula

Tabla 1. Dispositivos utilizados para el control de la hipertensión



Figura 1. Dispositivos utilizados para el control de la hipertensión

La imputación de los datos referidos a la tensión y el peso en la app se puede hacer de dos maneras: manual y automática. Gracias a la conexión Bluetooth de los dispositivos de medición utilizados, éstos envían de forma automática cada medición que realice el paciente al dispositivo móvil, que a su vez envía los datos al servidor previa sincronización de los mismos. Adicionalmente, la aplicación permite registrar el estado anímico en cualquier momento, con la finalidad de evaluar el impacto psicológico de la enfermedad sobre el paciente (ver Figura 2). El paciente puede introducir también los datos de forma manual, sobre todo para aquellos casos en los que no tenga a mano el dispositivo de medición o éste no funcione correctamente. La filosofía que se ha seguido al diseñar esta app ha sido la de involucrar al paciente en el seguimiento de su enfermedad, otorgándole capacidad de decisión sobre qué estilos de vida o pautas está dispuesto a seguir.

El resultado es una app fácil e intuitiva que permite al paciente registrar y consultar de manera sencilla y en cualquier momento información relevante sobre su estado de salud, y que permite su constante monitorización. Además, se pretende mejorar la adherencia al tratamiento gracias a las recomendaciones personalizadas en base a las preferencias del paciente, intentando mejorar su calidad de vida evitando innecesarias visitas al centro de salud.

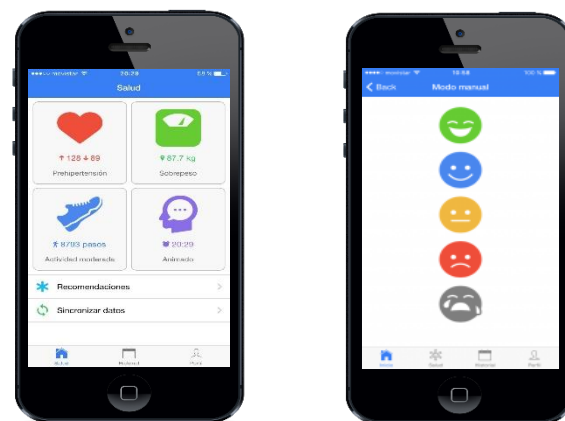


Figura 2. Interfaz app

4. Arquitectura

La arquitectura de nuestro sistema consta de tres áreas bien diferenciadas y conectadas entre sí: paciente, equipo médico y centro de datos. Los datos recogidos por los distintos dispositivos son enviados a través del móvil al centro de datos donde se almacenan y procesan. En la Figura 3 se muestra un esquema de la arquitectura propuesta y de las tecnologías empleadas.

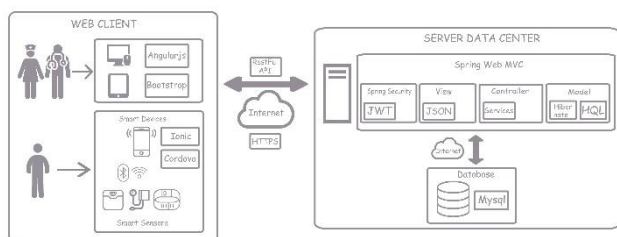


Figura 3. Arquitectura del sistema

Un sistema de ayuda a la decisión (SAD) se encarga de proporcionar recomendaciones a seguir para la gestión de la hipertensión en función de las características y los parámetros de las distintas variables (actividad física, peso y tensión) de cada paciente. La base de conocimiento para el diseño de este SAD ha sido aportada por expertos del Departamento de Enfermería de la Universidad de Alicante. En primer lugar, se estableció una clasificación en función de los valores de presión arterial, que definieron cuatro estados principales: normal, prehipertensión, fase 1 de hipertensión y fase 2 de hipertensión (ver Tabla 2).

Presión arterial	Sistólica (mm Hg)		Diastólica (mm Hg)
Normal	< 120	y	< 80
Prehipertensión	120 - 139	o	80 - 89
Fase 1 de hipertensión	140 - 159	o	90 - 99
Fase 2 de hipertensión	≥ 160	o	≥ 100

Tabla 2. Clasificación hipertensión según [13]

En segundo lugar, se definieron una serie de medidas u objetivos que el paciente puede adoptar para reducir tanto la presión arterial como el riesgo de sufrir una enfermedad cardiovascular (ver Tabla 3 y Tabla 4).

Medidas que reducen la presión arterial

- Reducción de peso
- Restricción del consumo de sal
- Limitación del consumo de alcohol
- Incremento de la actividad física
- Incremento del consumo de frutas y verduras
- Reducción del consumo de grasa total y grasa saturada

Tabla 3. Medidas que reducen la presión arterial

Cambios de vida que reducen el riesgo de enfermedad cardiovascular

- Abandono del tabaco
- Reducción del consumo de grasa total y grasa saturada
- Adopción de dieta mediterránea

Tabla 4. Medidas que reducen el riesgo de enfermedad cardiovascular

Por último, se estimó la mejora provocada por estas medidas sobre la presión arterial (ver Tabla 5).

Efecto de los cambios sobre la presión arterial

Cambios	Situación óptima	Reducción estimada
Peso	Mantener un peso ideal (IMC 20-25 kg/m ²)	5-20 mmHg per 10 kg
Consumo de sal	Reducir el consumo de sal por debajo de los 100mmol/día. (6 g de sal, una cucharilla de café)	2-8 mmHg
Consumo de alcohol	Límite en el consumo por debajo de 30 g/día (hombres) y 20 g/día (mujeres)	2-8 mmHg
Dieta saludable	Dieta rica en frutas, verduras y productos lácteos con reducción de grasa total y saturada	8-14 mmHg
Actividad física	Práctica de ejercicio aeróbico (al menos 5 días/semana)	4-9 mmHg

Tabla 5. Medidas que reducen el riesgo de enfermedad cardiovascular

De acuerdo con los datos recogidos por los distintos dispositivos y a las clasificaciones y medidas definidas en los puntos anteriores, el sistema propone recomendaciones personalizadas para cada paciente. Éste, tiene a su vez, la capacidad de decidir qué tipo de objetivos está dispuesto a seguir: reducción de consumo de sal, mejora de la actividad física, pérdida de peso, cambios en la dieta...ajustándose las recomendaciones propuestas por el sistema a las preferencias del paciente.

Como se muestra en la Figura 4, a modo de ejemplo, se han seleccionado distintos objetivos para la reducción de la presión arterial. Las recomendaciones propuestas están adaptadas a estos objetivos, y no se muestran aquellas relativas a los objetivos que el paciente no está dispuesto a cumplir (limitación del consumo de alcohol y abandono del tabaco).

De esta forma conseguimos empoderar al paciente, otorgándole capacidad de decisión sobre la configuración de su tratamiento, con la intención de mejorar la adherencia al mismo.



Figura 4. Objetivos y recomendaciones para el paciente

5. Conclusiones

La hipertensión es la enfermedad cardiovascular con mayor tasa de mortalidad. Al tratarse de una enfermedad crónica que afecta aproximadamente al 40% de mayores de 25 años en el mundo, su seguimiento y tratamiento representa un elevado coste para los sistemas públicos de salud de los distintos países. Además, la adherencia a los tratamientos por parte de los enfermos es baja, siendo aún menor en los tratamientos de larga duración como sucede con las patologías crónicas. El abandono del tratamiento puede ser debido a múltiples razones: no percibir una mejora inmediata, dificultad para seguir el tratamiento, no estar de acuerdo con él, etc. Por este motivo, esta app ha sido diseñada con el objetivo de mejorar la adherencia al tratamiento de los enfermos de hipertensión. El paciente es quien establece qué objetivos desea cumplir, aumentando su empoderamiento, y el sistema propone recomendaciones adaptadas a estos objetivos. Además, los dispositivos empleados permiten la recogida de datos de forma automática, simplificado la labor del paciente. Con este nuevo enfoque, se pretende realizar un seguimiento continuo del paciente y una mejora de la adherencia a su tratamiento.

Agradecimientos

Este trabajo está subvencionado por el Ministerio de Economía y Competitividad del Gobierno de España (ref. TIN2014-53067-C3-1-R) y cofinanciado por FEDER.

Referencias

[1] A. Gutiérrez-Misis, M.T. Sánchez-Santos, J.R. Banegas, M. V Zunzunegui, M. V Castell, A. Otero, Prevalence and incidence of hypertension in a population cohort of people aged 65 years or older in Spain., *J. Hypertens.* 29, 2011, 1863–1870 (ISSN: 0263-6352).

- [2] Página web de la Organización Mundial de la Salud (OMS). http://who.int/iris/bitstream/10665/87679/1/WHO_DC_O_WHD_2013.2_spa.pdf?ua=1 (Consultada: Septiembre 2017).
- [3] Página web de la Organización Mundial de la Salud (OMS). <http://www.who.int/features/qa/82/en/> (Consultada: Septiembre 2017).
- [4] H. Heydari, A. Kamran, Ss. Ahari, M. Biria, A. Malepour, Determinants of patient's adherence to hypertension medications: Application of health belief model among rural patients, *Ann. Med. Health Sci. Res.* 4, 2014, 922 (ISSN: 2141-9248).
- [5] J.J. Gascon, Why hypertensive patients do not comply with the treatment: Results from a qualitative study, *Fam. Pract.* 21, 2004, 125–130 (ISSN: 1460-2229).
- [6] E. Vermeire, H. Hearnshaw, P. Van Royen, J. Denekens, Patient adherence to treatment: Three decades of research. A comprehensive review, *J. Clin. Pharm. Ther.* 26, 2001, 331–342 (doi: j.1365-2710.2001.00363.x).
- [7] Hypertension in adults: diagnosis and management. <https://www.nice.org.uk/guidance/cg127/chapter/1-guidance> (Consultada: Septiembre 2017).
- [8] A.G. Logan, Transforming hypertension management using mobile health technology for telemonitoring and self-care support, *Can. J. Cardiol.* 29, 2013, 579–585 (ISSN: 0828282X).
- [9] H. Kang, H.-A. Park, A Mobile App for Hypertension Management Based on Clinical Practice Guidelines: Development and Deployment, *JMIR mHealth uHealth.* 4, 2016, e12 (ISSN: 2291-5222).
- [10] U. Bengtsson, K. Kjellgren, Hypertension Self-Management: Mobile-Phone Self-Reports Improve Patient Participation in Clinical Consultations, *J. Am. Coll. Cardiol.* 69, 2017, 1841 (ISSN: 07351097).
- [11] I. Hallberg, A. Ranerup, K. Kjellgren, Supporting the self-management of hypertension: Patients' experiences of using a mobile phone-based system, *J. Hum. Hypertens.* 30, 2016, 141–146 (ISSN: 0950-9240).
- [12] A. Banerjee, R.A. Ramanujan, S. Agnihotri, Mobile health monitoring: Development and implementation of an app in a diabetes and hypertension clinic, *Proc. Annu. Hawaii Int. Conf. Syst. Sci.* 2016-March, 2016, 3424–3436 (ISSN: 15301605).
- [13] A. V. Chobanian, G.L. Bakris, H.R. Black, W.C.ushman, L.A. Green, J.L. Izzo, D.W. Jones, B.J. Materson, S. Oparil, J.T. Wright, E.J. Roccella, Seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure, *Hypertension.* 42, 2003, 1206–1252 (doi:10.1161/01.HYP.0000107251.49515.c2).

Telemedicina I

Miércoles, 29 de Noviembre

Adaptación de sistemas heredados mediante la especificación HL7 FHIR

M. Pedrera Jiménez, J. Calvillo Arbizu^{1,2}, I. Román Martínez^{2,3}, L.M. Roa Romero^{1,2}

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Sevilla, España, {jcalvillo, lroa}@us.es

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

³ Departamento de Ingeniería Telemática, Universidad de Sevilla, España, isabel@trajano.us.es

Resumen

Existen actualmente multitud de repositorios de información sanitaria que se encuentran aislados bien porque no fueron diseñados para ser integrados en ecosistemas abiertos o porque están recluidos dentro de entornos cerrados. El aislamiento de estos sistemas obstaculiza la continuidad asistencial, es decir, la posibilidad de proporcionar asistencia sanitaria a un paciente allí donde sea necesario y disponiendo de toda la información referente a él de manera integrada y coherente. Además, dificulta la creación de repositorios compartidos para uso secundario de la información sanitaria. En el camino para potenciar el trasvase de información se hace necesario adaptar los sistemas existentes que no cuenten con funcionalidades para el intercambio abierto y estándar de información. Este trabajo analiza la viabilidad de utilizar el estándar HL7 FHIR para integrar un sistema heredado en un ecosistema abierto. El sistema heredado que sirve como prueba de concepto es una plataforma de monitorización remota y supervisada de pacientes renales en su domicilio. Entre las conclusiones del trabajo se analizan algunos puntos fuertes del estándar FHIR como su flexibilidad para cubrir información de sistemas y ámbitos específicos, y su cercanía a la implementación, a través del modelo de servicios web REST, que minimiza los tiempos de desarrollo y despliegue de los sistemas.

1. Motivación

El volumen de datos sanitarios está creciendo exponencialmente gracias a la generalización de los dispositivos de monitorización, la progresiva automatización en el proceso de recogida y el incremento de fuentes de información relacionadas directa o indirectamente con la salud de las personas. Pero, a menudo, los datos recogidos son almacenados en sistemas propietarios y solo pueden ser consultados a través de interfaces propietarias, quedando aislados de terceros y sin posibilidad de trasvasar esa información, por ejemplo, a los sistemas de historia clínica electrónica.

La continuidad asistencial requiere que toda la información referida a un mismo paciente, independientemente de dónde sea recogida y/o almacenada, esté cohesionada y disponible cuando sea necesaria. Por ello, los sistemas aislados suponen un obstáculo para garantizar una asistencia sanitaria precisa y de calidad. Así mismo, la creación de repositorios compartidos para uso secundario de la información clínica requiere que las fuentes dispongan de un mecanismo normalizado de intercambio de información, de manera que se pueda procesar y persistir independientemente del sistema del que provenga.

Existen estándares de comunicación de información sanitaria (como, por ejemplo, EN/ISO 13606 [1] o HL7 CDA [2]) que establecen protocolos para el intercambio entre sistemas y facilitan la interoperatividad en el dominio sanitario. Cualquier sistema que adopte uno de estos estándares está preparado para intercambiar información con otros que también lo adopten, evitando así la formación de islas de datos.

Sin embargo, la adopción de estándares en la práctica está lejos de generalizarse. Multitud de sistemas han sido diseñados para un propósito concreto y la interoperatividad no se ha contemplado como requisito de diseño. Así, la reutilización de sistemas o bases de datos heredados (es decir, desarrollados y en uso, aunque aislados) pasa por desarrollar intermediadores que realicen el trasvase de información entre el sistema heredado y aquel que va a reutilizar sus capacidades. Esta propuesta es asumible para conectar dos sistemas (el heredado y otro) pero su escalabilidad es muy limitada. Si pretendemos integrar el sistema heredado en un ecosistema complejo deberíamos desarrollar intermediadores entre el heredado y cada uno de los elementos del ecosistema, lo que supone un aumento de costes y tiempo inasumibles. Una alternativa es desarrollar un intermediador para el trasvase de información desde el sistema heredado a un estándar de comunicaciones. Así, con el desarrollo de un único elemento podemos trasvasar la información del sistema heredado a cualquiera que adopte el mismo estándar.

El estándar HL7 *Fast Healthcare Interoperability Resources* (FHIR) [3] surge hace unos años con el objetivo de simplificar la interoperatividad entre sistemas a través de una implementación sencilla, que reduce tiempo y coste de desarrollo. HL7 FHIR se basa en un conjunto de recursos de información intercambiados mediante estructuras XML o JSON utilizando un protocolo REST.

Este trabajo analiza la viabilidad de utilizar el estándar HL7 FHIR para integrar un sistema heredado en un ecosistema abierto. Se evalúa la facilidad y adecuación del estándar FHIR para construir una pasarela que exponga la información heredada a través de un servicio REST. El sistema heredado que sirve como prueba de concepto es un sistema de monitorización remota y supervisada de pacientes renales en su domicilio.

2. Materiales y métodos

2.1. Fast Healthcare Interoperability Resources (FHIR)

El estándar FHIR es la última especificación de HL7 para el intercambio electrónico de información en salud. FHIR se basa en el modelo arquitectural REST (*Representational state transfer*) el cual está enfocado al concepto de Recurso [4]. La información manejada por los sistemas son los recursos, que se manejan a través de sus representaciones. Se define un conjunto cerrado de operaciones posibles para gestionarlos (CREATE, READ, UPDATE y DELETE), de modo que se universaliza la forma de acceso a los mismos facilitando el desarrollo de soluciones. Los sistemas REST se comunican generalmente a través del protocolo HTTP (métodos GET, PUT, POST, DELETE, etc.).

Siguiendo la propuesta de REST, FHIR describe los contenidos clínicos y administrativos de los registros sanitarios susceptibles de ser intercambiados como recursos. Así se manejan como patrones reutilizables definidos y representados en un formato común (XML o JSON), y basados en un conjunto de tipos de datos. Pueden ser utilizados como prescribe el estándar, aunque pueden ser extendidos o combinados para satisfacer diferentes casos de uso.

2.2. Caso de estudio: sistema de e-salud para pacientes renales en el hogar (e-Nefro)

El sistema e-Nefro es el resultado de un proyecto de investigación multicéntrico entre la Universidad de Sevilla y cinco hospitales españoles. Su objetivo es facilitar la monitorización de pacientes renales en su domicilio a través de un sistema de e-salud adaptable a diferentes tipos de usuarios y escenarios [5].

El sistema e-Nefro, se apoya en una base de datos relacional implementada con tecnología PostgreSQL [6], para almacenar la información de manera persistente, y acceder a ella de manera estructurada cuando sea necesario. En ella se almacena la información referente a las personas implicadas en el tratamiento, pacientes, profesionales y cuidadores; así como de las organizaciones que intervienen en él; el plan de cuidados y las actividades que debe realizar el paciente en su domicilio (Figura 1); los registros e incidencias generados por éste en el seguimiento de su tratamiento y los mensajes entre paciente y profesionales.



FECHA	HORA	TIPO	ACTIVIDAD	DESCRIPCIÓN	VARIABLE	OBSERVACIONES
19/10/2017	00:00	Imagen	Enviar a su médico	Foto del cateter	Imagen	Hecho
19/10/2017		Desayuno	Actividad Médica	Medicamento 1 (15 minutos Antes de la comida)		Hecho
19/10/2017	12:00	Imagen	Enviar a su médico	Foto del cateter	Imagen	Hecho
19/10/2017		Almuerzo	Actividad Médica	Medicamento 1 (15 minutos Antes de la comida)		Hecho
19/10/2017		Cena	Actividad Médica	Medicamento 1 (15 minutos Antes de la comida)		Hecho

Mostrados 5 resultados

Actividades de monitorización pendientes

Figura 1. Sistema e-Nefro: registro de información de actividades realizadas por el paciente

El objetivo de este trabajo es proveer de un servicio para el acceso a toda la información que almacena el sistema e-Nefro a través de la especificación HL7 FHIR.

3. Resultados

3.1. Identificación de objetos de información de la base de datos de e-Nefro

El primer paso para desarrollar una pasarela de exportación de datos desde un sistema heredado es identificar la información que se desea poner a disposición de terceros (por ejemplo, sistemas de historia clínica electrónica). Como se ha descrito anteriormente, el sistema e-Nefro proporciona una plataforma tecnológica para el intercambio de información entre pacientes, cuidadores y profesionales, incluyendo actividades del plan de cuidados (que debe realizar los pacientes) y los registros de información que dan cuenta de la ejecución de dichas actividades.

En la Figura 2 se muestran los objetos de información identificados y aquellos atributos que permiten las relaciones entre ellos. En primer lugar, tenemos los objetos de información demográfica que almacenan datos sobre pacientes (ID, nombre, fecha de nacimiento, número de historia clínica, información de contacto, etc.), personal sanitario (ID, organización y cargo, tipo de profesional, datos de contacto, etc.) y organizaciones (ID, datos de contacto y responsable). Como se puede observar en la Figura 2, el personal sanitario prescribe actividades y citas para pacientes concretos (aquellos que tienen asignados).

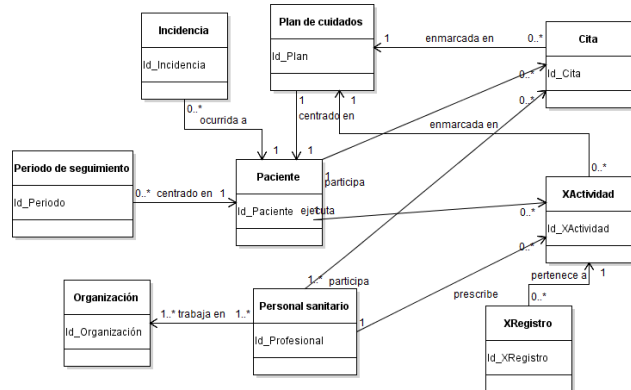


Figura 2. Relaciones entre los objetos de información del sistema e-Nefro

Cada paciente tiene asignado un periodo de seguimiento y uno o varios planes de cuidados. Dentro de cada plan se estructuran las citas y actividades prescritas por el profesional sanitario. Las incidencias se asignan al paciente, independientemente del plan de cuidados activo.

Las actividades pueden ser de tres tipos: medida de variable fisiológica, toma de imágenes (para registrar, por ejemplo, el estado de un catéter) o ingesta de medicamentos. Todos los tipos de actividades cuentan con el mismo conjunto de atributos (ID, frecuencia de realización, periodo de validez, paciente, prescriptor, etc.). Finalmente, cada actividad puede dar lugar a un conjunto ilimitado de registros (por ejemplo, para una actividad de medida de temperatura con frecuencia diaria se generará un

registro cada día durante el periodo de validez de la actividad).

3.2. Mapeo entre recursos FHIR y objetos de información identificados

Una vez identificada la información que se desea poner a disposición de terceros, el siguiente paso es analizar los recursos FHIR existentes y escoger aquellos que pueden servir para el trasvase de información entre sistemas. La Tabla 1 muestra la relación entre los objetos de información de e-Nefro y los recursos FHIR.

Debido a que los recursos FHIR han sido definidos como conceptos clínicos genéricos que puedan ser utilizados en cualquier tipo de sistema, no cubren completamente toda la información del sistema e-Nefro. Desde HL7 han contemplado la necesidad de utilizar FHIR en contextos locales o sistemas específicos y para ello han habilitado un mecanismo de extensiones de recursos [7]. Una extensión no es más que añadir nuevos campos de información a un recurso ya definido.

Objeto e-Nefro	Recurso FHIR
Paciente	<i>Patient</i>
Personal sanitario	<i>Practitioner</i>
Organización	<i>Organization</i>
Actividad cita	<i>Appointment</i>
Registro cita	<i>Encounter</i> (*)
Act. ingesta medicamento	<i>Medication Order</i>
Reg. ingesta medicamento	<i>Medication Administration</i>
Act. medida de variable	<i>Procedure Request</i> (*)
Act. toma de imagen	
Reg. medida de variable	<i>Observation</i>
Reg. toma de imagen	
Incidencia	<i>Detected Issue</i> (*)
Plan de cuidados	<i>Care Plan</i>
Periodo de seguimiento	<i>Episode Of Care</i> (*)
Plan de cuidados	<i>Condition</i>
Periodo de seguimiento	

(*): recurso extendido

Tabla 1. Mapeo de objetos de información del sistema e-Nefro a recursos FHIR

Todas las extensiones requieren la publicación de una definición formal, mediante un recurso tipo *StructureDefinition*. Siempre que se intercambian los recursos que contienen las extensiones, las definiciones de las extensiones estarán a disposición de todas las partes que comparten los recursos.

En nuestro caso, algunos recursos como *Encounter* o *DetectedIssue* han requerido el uso de extensiones para cubrir toda la información contenida en el sistema e-Nefro. Por ejemplo, el recurso que modela el encuentro de asistencia clínica al paciente (*Encounter*) recoge información sobre el paciente, los profesionales implicados, el lugar del encuentro y la cita que programó el encuentro (*Appointment*). En el sistema e-Nefro, además de esta información, se contemplan registros para observaciones del médico y enfermería, así como comentarios para el paciente. Esta información adicional se

utiliza en el sistema para registrar las conclusiones del encuentro y está disponible para los diferentes participantes. Por tanto, la extensión del recurso *Encounter* se ha realizado añadiendo tres campos opcionales de tipo *string* para recoger las conclusiones del encuentro (uno para médico, otro para enfermero y un tercero para el paciente).

3.3. Diseño e implementación del servicio web REST

Como se ha comentado, FHIR se basa en el intercambio de representaciones de los recursos que contienen la información solicitada. Debido a este enfoque de construir la especificación en torno a estos elementos básicos, es necesario definir los métodos de acceso a la información para cada recurso de manera independiente. De este modo, el cliente, formalmente, estará solicitando únicamente un recurso concreto utilizando los métodos definidos.

Estos métodos son manejados en el servidor como operaciones *Search*, interacción definida por la propia especificación para que los clientes puedan acceder a recursos siguiendo algún criterio de búsqueda. Esta interacción puede llevarse a cabo con métodos GET o POST indistintamente [8] (Figura 3). Cuando un cliente solicita un determinado recurso, lo que recibe es una representación del recurso de tipo *Bundle*, y con el que podrá trabajar para extraer la información requerida.

```
GET [base]/[resourcetype]?name=value&...
```

```
POST [base]/[type]/_search{?[parameters]{&_format=[mime-type]}}
```

Figura 3. Sintaxis GET/POST de la operación Search

Se han definido un conjunto de métodos de búsqueda para cada tipo de recurso, según la información que contienen y el interés por parte de terceros. Así, por ejemplo, los recursos de tipo *Patient* pueden recuperarse buscando por el identificador (en el caso que estemos buscando un paciente concreto) o por médico (para cuando queremos recuperar todos los pacientes asignados a un clínico).

Para la implementación del servicio se ha desarrollado un intermediador que expone los métodos de búsqueda anteriores y que se basa en una implementación de la API FHIR de código abierto en Java, HAPI FHIR [9]. Esta pasarela se encarga de: (1) recibir peticiones de los clientes de acuerdo con los métodos de búsqueda; (2) realizar las peticiones al sistema e-Nefro para recuperar la información solicitada; (3) componer la representación del recurso FHIR de tipo *Bundle* con toda la información solicitada (estructurada como recursos FHIR); y (4) devolver la respuesta al cliente.

3.4. Validación y pruebas

Una vez desarrollada la pasarela, se han realizado pruebas desde dos clientes: uno web y otro Android implementado específicamente para este trabajo.

La API utilizada proporciona una interfaz para realizar las pruebas sobre nuestro servicio desde un cliente web (navegador). Esta interfaz incluye: información sobre el

servicio (nombre, versión que implementa y dirección base) y la lista de recursos que tiene disponibles. Al elegir un recurso, se presenta las operaciones implementadas por el servidor (y sus parámetros) para dicho recurso (Figura 4). Esta interfaz facilita a los desarrolladores la implementación de clientes de acceso al servicio.

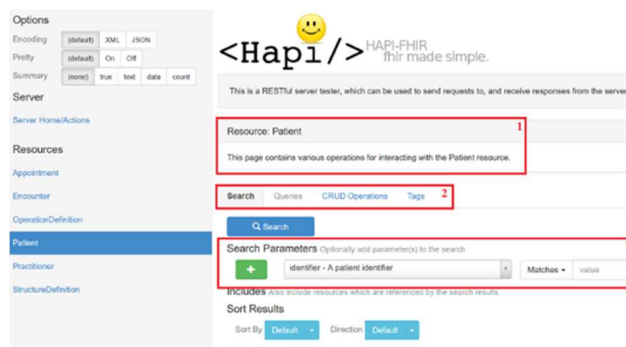


Figura 4. Módulo de validación de HAPI FHIR para un recurso

Por otro lado, se ha desarrollado un cliente FHIR Android para validar el servicio web desde un sistema externo real. En un primer paso este cliente valida la consulta del recurso paciente, ya que permite introducir el DNI de un profesional y devuelve la información de los pacientes a su cargo (Figura 5). En el caso de que el identificador del profesional sea incorrecto o no tenga pacientes asignados aparece un mensaje de error.

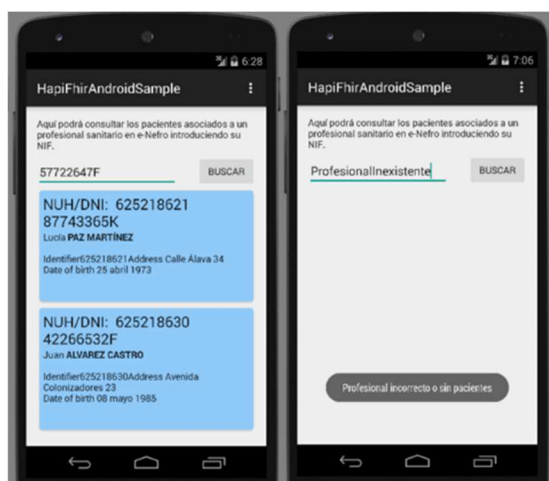


Figura 5. Ejemplo de cliente FHIR Android

4. Conclusiones

La abundancia de repositorios aislados de información sanitaria obstaculiza la integración coherente de todo el conocimiento referido a un mismo paciente y, por ende, la continuidad asistencial y el uso secundario de dicha información. Al margen de desarrollar nuevos sistemas conforme a estándares que potencien la interoperatividad, se hace necesario adaptar los sistemas existentes (heredados y en uso) que no cuenten con funcionalidades para el intercambio abierto y estándar de información.

En este trabajo se ha analizado la viabilidad de utilizar el estándar HL7 FHIR para integrar un sistema heredado en un ecosistema abierto. Para ello, se ha utilizado un sistema para la monitorización de pacientes renales en su domicilio como sistema heredado (sistema e-Nefro). Este trabajo ha

expuesto algunos de los puntos fuertes del estándar FHIR. En primer lugar, el enfoque modular de los recursos facilita su identificación y selección. Además, la sencillez y generalidad de los recursos permite que sean adoptados por cualquier sistema de información sanitario. Junto a todo esto, el mecanismo de extensión de recursos permite abarcar sistemas o ámbitos específicos donde la información sobrepase a los recursos formalmente definidos. Este ha sido el caso de algunos de los recursos que hemos utilizado en nuestra pasarela. El mecanismo de extensión, aunque de utilidad para garantizar la flexibilidad del estándar, obliga a compartir la definición de los recursos extendidos entre todos los participantes de la comunicación. Indudablemente esto es un punto débil del estándar que no menoscaba el interés de adaptarlo a sistemas específicos, sobre todo para el problema que nos ocupa de sistemas heredados.

Finalmente, uno de los mayores beneficios del estándar FHIR es su cercanía a la implementación. En nuestro caso, una vez identificados los recursos, el desarrollo del servicio web ha sido relativamente sencillo, teniendo que dedicar más tiempo al módulo que recupera la información del sistema e-Nefro. Esta sencillez de cara a la implementación es una consecuencia de la lección aprendida de los estándares HL7v2 y v3, que han sido duramente criticados por su complejidad.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el CIBER-BBN, el Grupo de Ingeniería Biomédica de la Universidad de Sevilla y el Proyecto DTS15/00195 del Fondo de Investigación Sanitaria. CIBER-BBN es una iniciativa fundada por el VI Plan Nacional de I+D+i 2008-2011, la Iniciativa Ingenio 2010, el Programa Consolider, Acciones CIBER y financiado por el Instituto de Salud Carlos III con ayuda del Fondo de Desarrollo Regional Europeo.

Referencias

- [1] ISO/DIS 13606: Health informatics - Electronic health record communication, 2017.
- [2] ISO/HL7 27932: Data Exchange Standards - HL7 Clinical Document Architecture, Release 2, 2009.
- [3] HL7. HL7 Fast Healthcare Interoperability Resources (FHIR) Release 3. <http://hl7.org/fhir/> (Consultada: Septiembre 2017).
- [4] HL7. RESTful API. <https://www.hl7.org/fhir/http.html>. (Consultada: Septiembre 2017).
- [5] Calvillo-Arbizu J, Roa-Romero LM, Milán-Martín JA, et al. Aproximación metodológica al diseño de un sistema de teleasistencia para pacientes en prediálisis y diálisis peritoneal. *Nefrología*, vol. 34(2), 2014, pp. 149-57.
- [6] PostgreSQL. <https://www.postgresql.org/> (Consultada: Septiembre 2017).
- [7] HL7. HL7 FHIR Extensibility. <https://www.hl7.org/fhir/extensibility.html>. (Consultada: Septiembre 2017).
- [8] HL7. HL7 FHIR Search. <https://www.hl7.org/fhir/search.html>. (Consultada: Septiembre 2017).
- [9] HAPI FHIR. <http://hapifhir.io/> (Consultada: Septiembre 2017).

Oportunidades para la transmisión de información médica en las nuevas redes de misión crítica

Aitor Sanchoyerto, Fidel Liberal

asanchoyerto@eieo.org, fidel.liberal@ehu.eus

Grupo de Investigación NQaS (Networking Quality and Security)

UPV/EHU – Escuela de Ingeniería de Bilbao, Alameda Urquijo s/n 48013 Bilbao, Vizcaya

Resumen

Tradicionalmente han existido dos familias de tecnología separadas para proporcionar comunicaciones inalámbricas de área amplia: redes celulares comerciales y sistemas de seguridad pública dedicados, generalmente basados en redes privadas de radio (PMR), y orientados fundamentalmente a la voz.

Las redes de seguridad pública proporcionan comunicaciones para servicios como policía, bomberos y ambulancias. En este ámbito el requisito ha sido desarrollar sistemas que sean altamente robustos y puedan atender las necesidades específicas de comunicación de los servicios de emergencia. Esto ha fomentado las normas de seguridad pública - como TETRA, TETRAPOL y P25 - que proporcionan un conjunto de características que no eran compatibles con los sistemas celulares comerciales. Así, los clásicos walkie-talkies proporcionan servicios de voz (y datos de banda estrecha) que limitaban las posibles aplicaciones que los servicios de atención médica podían utilizar en la atención a emergencias.

Para proporcionar el mejor servicio a ambas comunidades y aprovechar las capacidades de las redes de banda ancha, el organismo de estandarización 3GPP creó una plataforma para las comunicaciones de misión crítica.

El establecimiento de normas técnicas comunes para la seguridad comercial y pública de la telefonía móvil ofrece ventajas a ambas comunidades:

- La comunidad de seguridad pública obtiene acceso a las ventajas económicas y técnicas generadas por la escala de las redes celulares comerciales.
- La comunidad celular comercial tiene la oportunidad de abordar partes del mercado de seguridad pública, así como obtener mejoras a sus sistemas que tienen aplicaciones interesantes para los consumidores y las empresas.

Este nuevo panorama ofrece nuevas posibilidades para la transmisión de datos, imagen y sonido en aplicaciones médicas. Cuestiones como la seguridad de las comunicaciones y la velocidad y retardo mínimo necesarios, que generalmente han supuesto una barrera para el desarrollo de soluciones médicas para redes PMR, estarán disponibles ahora directamente por la propia plataforma estandarizada por el 3GPP. Este artículo pretende identificar esas nuevas posibilidades para el sector médico y el trabajo que están realizando los diferentes grupos de trabajo en el 3GPP de cara a garantizar los requisitos.

1. Motivación

Las redes celulares comerciales han sido tradicionalmente impulsadas [1] por las necesidades de los consumidores y usuarios empresariales. Este entorno ha producido estándares avanzados como LTE que proporcionan velocidades de datos de múltiples megabits por segundo y capacidades multimedia, así como servicios tradicionales de voz y mensajería.

Con la popularización del acceso móvil a Internet y la disponibilidad de teléfonos inteligentes con capacidades multimedia quedaba patente la utilidad que esos servicios podían tener para los cuerpos de emergencias: imágenes, video y el empleo de sensores IoT especializados, pero bajo los estrictos controles de seguridad, privacidad y continuidad que demanda la operación en estos sectores.

A través de un breve recorrido de las diferentes versiones de las normas del 3GPP en el ámbito de LTE y 5G analizaremos cómo se han ido incorporando los diferentes servicios de las redes comerciales celulares a las redes de seguridad pública y su utilidad para los servicios médicos.

La adopción de servicios multimedia operativos en las redes comerciales actuales, no supone olvidarse de los servicios de llamadas de voz propios de las redes de seguridad pública como las llamadas a grupo o PTT (Pulsar para Hablar) utilizados para la coordinación de emergencias.

2. Servicios de Misión Crítica en 3GPP[2]



Figura 1. 3GPP en el Centro de los Servicios de Emergencia

La creación de una plataforma para comunicaciones de seguridad pública, a partir de ahora, **misión crítica (MC)** y **servicios de misión crítica (MC Services)** ha sido una prioridad clave de 3GPP en los últimos años y se espera que evolucione hacia el futuro tomando más requisitos, de diferentes agentes industriales.

Impulsadas por el calendario de lanzamiento de 3GPP, las funcionalidades relacionadas con la misión crítica se han sincronizado. Cada nueva generación (3GPP Release) abarca un conjunto completo de normas para los proveedores de equipos y operadores para poner en fase sus implementaciones y despliegues, basadas en las demandas del propio mercado.

2.1. Antecedentes

Antes de la Release 13, el 3GPP estandarizó un conjunto de funcionalidades que permitieron más tarde servir como facilitadores de los servicios de misión crítica (MC). Por ejemplo, los servicios de MC se benefician del uso de portadores de multidifusión en LTE debido a la estandarización de eMBMS y habilitadores del sistema de comunicación de grupo (GCSE). Además, los servicios basados en la proximidad D2D (ProSe) se mejoraron para respaldar el uso de la seguridad pública. Esto permitía utilizar llamadas de grupo de forma eficiente, pero el plano de señalización para llamadas o envío de video o datos no estaba definido.

2.2. Misión Crítica Push to Talk en 3GPP Rel-13

3GPP comenzó la definición de esos mecanismos de señalización mediante la estandarización del Push to Talk de Misión Crítica (MCPTT) en Rel-13, completado en 2016.

El 3GPP no sólo cumplió con su compromiso para con la industria de comunicaciones de emergencia, sino que también demostró su capacidad para asumir nuevos trabajos relacionados con las aplicaciones y completarlo dentro de un plazo establecido.

2.3. Servicios críticos de misión en 3GPP Rel-14

MCPTT fue el primer paso importante en una serie de servicios de misión crítica (MC) y funcionalidades demandadas por el mercado. En Rel-14, actualmente en su recta final (Septiembre 2017), 3GPP agregó servicios adicionales de MC y mejoras a su repertorio de aplicaciones estandarizadas, específicamente:

- Mejoras a MCPTT
- MCData
- MCVideo [3]

Las especificaciones Rel-14 MCVideo y MCData ofrecen a los proveedores de equipos, así como a los operadores de red, un conjunto de estándares consistentes y totalmente especificados, listos para la implementación inicial y el despliegue. Esas nuevas capacidades, que comprenden la transmisión de forma eficiente de Video y Datos sobre redes de misión crítica de nueva generación, van a constituir una oportunidad para el desarrollo de sistemas de transmisión para soporte de la atención médica en emergencias.

2.4. Servicios críticos de misión y requisitos específicos de la industria en 3GPP Rel-15 y más allá

Todos los grupos de trabajo 3GPP ya han comenzado a trabajar en Rel-15, la primera versión del sistema 5G.

En Rel-15, los servicios de misión crítica (MC) se desarrollarán aún más. Además de eso, 3GPP está actualmente evaluando y estudiando otros temas relacionados con MC para Rel-15 y más allá, en particular:

Interconexión entre sistemas los servicios de misión crítica (MC) de 3GPP:

- La interconexión entre el sistema MC de 3GPP y sistemas heredados como TETRA o P25, para servicios de voz y datos cortos
- MC Requisitos de servicio de las industrias ferroviarias
- API de MBMS para MC Servicios de Misión Crítica.
- MC Requisitos de servicio de las industrias marítimas

2.5. Relación de Servicios de Misión Crítica (MC) por versión del 3GPP

A continuación, a través de esta figura hemos querido resumir la relación de servicios con cada una de las versiones del 3GPP.



Figura 2. Relación de servicios de misión crítica

Como vemos es un plan de trabajo hasta marzo de 2020, donde ya se ha incluido 5G como evolución del estándar LTE.

3. Servicios Médicos de Banda Ancha

La conectividad inalámbrica ha transformado nuestro mundo tan rápidamente que a veces es difícil apreciar cómo están cambiando los servicios médicos.

Feature/Standard	Description	Connectivity enabled cases	Impacts	Types of benefits				
				Efficiency	Productivity	Cost	Quality	Flexibility
Healthcare Hospital/clinic	Fast triage centers, triage and patient treatment centers, and triage hubs	• Digital/mobile patient charts • Triage of patients and equipment • Shared staff communications	• Better patient and family experience • Integrated records and management	✓	✓	✓	✓	✓
Telemedicine	Remote access to doctors	• Diagnostic • Follow up appointments • Specialist physicians	• Preventative care • Reduced follow-up related costs • Expanded patient base	✓	✓	✓	✓	✓
Medical monitoring	Devices worn to track vitals, including blood sugar, glucose, heart rate, or blood pressure	• Chronic disease management (heart, diabetes, and asthma)	• Identify symptomatic cases • Avoid major health events or worsening of condition	✓	✓	✓	✓	✓
Public Safety Law enforcement	Police officers and community peace officers	• Resource tracking and deployment	• Optimize resource deployment • Crime prevention • Faster critical case processing	✓	✓	✓	✓	✓
Emergency responders	Emergency services, fire, and disaster management	• Instant feedback to centralized hub • Instant-wide information	• Rapid response • Saving lives • Identifying critical cases	✓	✓	✓	✓	✓
Public health	Food safety, air quality, and resource management	• Services to identify poor infrastructure • Air quality reports	• Reducing potential public health threats • More efficient inspections	✓	✓	✓	✓	✓

Figura 3. Fuente Análisis Deloitte por Sectores

Un estudio de Journal of Health Economics sobre los servicios de EMS de Salt Lake City encontró que una mejora continua en el tiempo de respuesta se traduce en una reducción del 8% en mortalidad, lo que significa que los esfuerzos para coordinar mejor las respuestas o el despliegue automático podrían salvar vidas. [4]

Gracias a la conectividad inalámbrica y más concretamente a los programas de tele asistencia se han logrado reducir en Estados Unidos la tasa de mortalidad. En este país, la insuficiencia cardíaca crónica afecta a casi 6 millones de personas por año. Estos programas han creado una disminución del 20% en la mortalidad y una

reducción del 50% en los costos médicos asociados con la insuficiencia cardíaca crónica. [5]

La tele medicina es solo una parte de esta revolución tecnológica, ya que la monitorización del paciente ha seguido evolucionando y creciendo exponencialmente. Por ejemplo, un estudio de la Sociedad de Sistemas de Gestión e Información de la Salud (HIMSS) informó que profesionales médicos destacados del Sistema de Salud Davis de la Universidad de California implementaron un programa que utiliza tele asistencia clínica y telemedicina. A partir de 2016, el programa redujo las transferencias rurales a urbanas en un 31% estimado, ahorrando a los departamentos rurales de emergencia un promedio de \$ 4,662 por hospitalización [6][7]

Una de las virtudes de la medicina digital o conectada es el acceso remoto a las imágenes y la capacidad de compartir rápidamente información a través de áreas geográficas, por lo tanto, comprimir el tiempo y la distancia. Si un médico en una parte del país (o el mundo) necesita una segunda opinión, puede transmitir la imagen médica o el resultado de la prueba a otro médico y obtener la opinión de esa persona sobre la situación médica. Esto ayuda a los médicos a obtener acceso a la experiencia muy necesaria y permite que el sistema de atención de la salud supere las disparidades según la geografía, los ingresos o el estado de la clase.

La transmisión a alta velocidad de rayos X o tomografías computarizadas permite a los pacientes obtener rápidamente una segunda o tercera opinión. No estarán limitados a especialistas que viven en su ciudad natal, sino que podrán acceder a una red global de profesionales médicos. Para los pacientes, esto ampliará la reserva de talentos y brindará una gran experiencia en salud a comunidades pequeñas sin mucha infraestructura de salud.

3.1. Resumiendo

La transformación digital tiene repercusión en todo el sistema sanitario. En la atención inicial del paciente por los servicios médicos de emergencia en campo que disponen de información detalla del historial del paciente y pueden ser apoyados remotamente por médicos de urgencias para aplicar a la víctima el mejor tratamiento inicial que le permita su estabilización y posterior transporte al centro hospitalario con seguridad. En el propio traslado, optimizando los tiempos en función de la situación real de tráfico y estado de semáforos permitiendo derivar al paciente al centro hospitalario más capacitado para atender la urgencia. En la recepción de la víctima en urgencias, los médicos tienen información detallada del paciente que van a recibir, el tratamiento que ha recibido y el estado de sus constantes vitales. Antes que llegue el paciente ya pueden tener organizado el equipamiento necesario y las pruebas que haya que realizarle. Y en urgencias, cuando se recibe a la víctima, ya está todo el personal y equipamiento dispuesto. Si es necesario se habrá contactado con los especialistas que estarán ya participando en la intervención vía videoconferencia y recibiendo en tiempo real en donde se encuentren las constantes vitales en tiempo real del

paciente, su historial y todas las pruebas analíticas realizadas, así como las radiografías, resonancias o escáner que se practiquen. Serán un apoyo fundamental para el médico de urgencias.

4. Servicios Médicos de Misión Crítica

El transporte sanitario de urgencia es un servicio de emergencia dedicado a proveer de tratamiento de cuidado médico fuera del hospital y su posterior traslado médico al centro médico adecuado conforme a la evaluación de campo.

Gracias a las comunicaciones de banda ancha se consigue extender el hospital y su servicio de urgencia a pie de calle. Pero esto implica emplear una red de misión crítica que asegure la privacidad, la continuidad, la estabilidad y la latencia de comunicaciones. Pero toda la información media que puede requerir una intervención de urgencia en campo no puede ser transmitidas por las actuales redes de comunicaciones de emergencia existentes: TETRA o TETRAPOL. Pero ¿qué es lo que demandan los técnicos de los servicios de emergencia de atención médica?

Durante el proyecto europeo GERYON [8] hemos encuestado a un grupo representativo de técnicos de los servicios de emergencias, con especial representación de técnicos de atención médica y de seguridad. Cada técnico operativo asigno una puntuación de 1 a 5 (siendo 1 el mínimo y 5 el servicio más interesante) a un conjunto de servicios de datos multimedia propuestos en el ámbito de las Comunicaciones de Misión Crítica. La tabla adjunta ofrece una lista ordenada con los puntajes obtenidos por cada servicio después de analizar los resultados. La puntuación total corresponde al valor medio asignado por los usuarios.

Rank	GERYON Datos Multimedia	Score
1	Red button Service	4,55
2	Real time video transmission	4,41
4	Total conversation	4,14
5	Real time messageinterchange	4,00
6	Automaticallyinitiatedemergencycall	4,05
7	Miscellaneous data transmission	3,82
8	Stored video transmission	3,73

Tabla 1. Tabla resumen de los resultados de la encuesta sobre los servicios multimedia de GERYON

Las principales conclusiones que se obtuvieron fueron:

- El 68% de los encuestados preveía que el servicio de botones rojos será el servicio más demandado para futuras situaciones de emergencia. Actualmente se ha implementado en vehículos bajo el estándar eCall.
- Además, la transmisión de video en tiempo real y la transmisión de imágenes son los segundos servicios multimedia más valorados por los usuarios finales en general.

Para obtener una mejor estimación de los requisitos del usuario con respecto a las capacidades de la red de telecomunicaciones, también se preguntó a los técnicos sobre el tipo de información y la información real que sería más interesante para fines de emergencia.

Real time video



Figura 4. Transmisión de Video en Tiempo Real

A la mayoría de los técnicos finales encuestados (> 90%) le gustaría tener un video en tiempo real tanto de la situación general como de las víctimas. A continuación, les resulta interesante la posibilidad de tener imágenes de la situación general (~ 50%). El envío de un video (> 70%), una imagen (~ 70%) o una aplicación de teléfono inteligente específica (> 90%) son altamente valorados por todos los usuarios como las formas más adecuadas de comunicar servicios de emergencia, más allá de la comunicación de llamadas de voz clásica.

Con respecto a la información útil adicional relacionada con un incidente de emergencia, la mayoría de los usuarios (> 90%) dijo que saber el tipo del incidente, el número de víctimas y conocer la localización del equipo de primera respuesta más cercano de la ubicación del incidente sería extremadamente útil, mientras también se requiere información médica (el historial médico de las víctimas, y la información en tiempo real de los signos vitales de las víctimas) (para > 95% de los encuestados).

Stored video transmission



Figura 5. Envío de videos almacenados

En pocas palabras, un área clave de preocupación para todos los usuarios encuestados es tener la capacidad de enviar información multimedia, especialmente de tipo de video e imágenes, aparte de los servicios básicos de voz de emergencia y datos de banda estrecha. Como era de esperar, también la información de ubicación es de importancia primordial para todos los grupos de usuarios, independientemente de la disponibilidad de cualquier otro servicio multimedia.

Conclusiones

La información que manejan los servicios de emergencia y en especial los servicios sanitarios requieren de la máxima seguridad, privacidad y prioridad dentro de la red de transmisión. El empleo de las redes comerciales de banda ancha para la transmisión de esta información pone en serio riesgo la validez de la información transmitida. Esta información debe ser transmitida a través de redes de seguridad pública que dispongan de los servicios de misión crítica implementados acorde al 3GPP soportados sobre una red de transporte LTE o la futura 5G.



Figura 6. Video en Tiempo Real desde un RPA

La transmisión de señales biomédicas, así como la IoPST (Internet of Public Safety Things) que incluya sensores de todo tipo, son algunas de las áreas de trabajo actual, que permitirán enriquecer las comunicaciones médicas y la asistencia a pacientes en situaciones de emergencia.

Referencias

- [1] A New Generation of e-Health Systems Powered by 5G Chief Editor: Christos
- [2] ETSI TS 122 281 V14.3.0 (2017-03); LTE; Mission Critical Video over LTE (3GPP TS 22.281 version 14.3.0 Release 14)
- [3] Mission Critical Services in 3GPP, June 20, 2017, By Yannick Lair and Georg Mayer
- [4] Elizabeth Wilde, July 2013, Ibid.
- [5] Andrew Broderick, "Partners Healthcare: Connecting Heart Failure Patients to Providers Through Remote Monitoring," The Commonwealth Fund, January 2013
- [6] "Connected Health Case Study: Connected Health, No Longer Disruptive – UC Davis Health System," Healthcare Information and Management Systems Society (HIMSS), February 10, 2016, <http://www.himss.org/connected-healthcase-study-connected-health-no-longer-disruptive-uc-davishealth-system>.
- [7] Darrell M. West, "How 5G Technology Enables the Health Internet of Things," Center for Technology Innovation at The Brookings Institution, July 2016, <https://www.brookings.edu/wpcontent/uploads/2016/07/How-5G-tech-enables-health-iotwest.pdf>.
- [8] GERYON (Next generation technology independent interoperability of emergency services). DELIVERABLE D2.1 Emergency Communications: Current State and Users' Requirements, 31/05/2015, 3.3.2.1 GERYON Enhanced Emergency Services [Pages 21-32]

Estudio comparativo de plataformas y herramientas de tratamiento de sistemas Big Data en Telemedicina

Y. Noval García¹, K. Espinosa Acereda²

¹ Universidad del País Vasco, Bilbao, España, ynoval001@ikasle.ehu.eus

² Ingeniería de Comunicaciones, Universidad del País Vasco, Bilbao, España, koldo.espinosa@ehu.eus

Resumen

En el presente artículo vamos a analizar qué es el Big Data y las posibilidades que ofrece en Telemedicina, tratando de explicar ambos conceptos y su relación. Asimismo, estudiaremos diferentes herramientas de Big Data para el sector sanitario que existen en la actualidad, lo que nos dará una visión de cómo se encuentra ahora mismo de desarrollado, a qué áreas está enfocado y a qué público va dirigido. Además, queremos observar las limitaciones que tiene y cómo se pueden sortear. Observaremos que el Big Data abre ante nosotros nuevos horizontes para la medicina. La información que hasta ahora sólo nos indicaba cómo habían sido las cosas en el pasado, puede ayudarnos a predecir comportamientos, a encontrar nuevos patrones y, en definitiva, a indicarnos nuevas maneras de ver el futuro.

1. Introducción

En 2008 llamó la atención una noticia relacionada con Google y su capacidad de predecir la gripe. El estudio se basaba en la comparativa de cifras de afectados por la gripe en los inviernos anteriores y las búsquedas realizadas en Google en esas zonas. Se observó que allí donde había epidemia de gripe, las palabras y expresiones más utilizadas eran 45, de las cuales la mayoría eran términos médicos relacionados con la enfermedad [1].

Asumieron que si había una relación directa entre las búsquedas en Google y las zonas más afectadas por la gripe en años anteriores, la habría también ese invierno. Así es como *Google Flu Trends* fue capaz de anticipar y analizar en tiempo real dónde la gripe estaba incidiendo más y cómo era la evolución, minuto a minuto, dejando, de esta manera, muy atrás las estadísticas del Centro de Control de Enfermedades (CDC) del país, que tarda unas dos semanas en procesar los resultados de las encuestas hechas en los diferentes centros de salud.

Este es un ejemplo llamativo del uso que se puede hacer de la información y de la capacidad que tienen los datos, muchas veces poco relevantes, para tras juntarse, analizarse y relacionarse unos con otros, obtener conclusiones o razonamientos.

Este artículo trata de explicar qué es el Big Data y cómo esa información y su análisis pueden ser utilizados en medicina. Para ello, se repasan varias herramientas y se realiza una comparativa entre ellas, basándonos en las diferentes áreas del sector sanitario que cubren y en cómo lo hacen, o hasta dónde llega su alcance y las limitaciones que tienen.

2. Estado del arte

2.1. Telemedicina

La Telemedicina es la atención médica o el intercambio de información médica mediante el uso de las telecomunicaciones o sistemas de información, es decir, a distancia. Esto incluye no sólo prestación de la asistencia médica (consulta, diagnóstico y tratamiento), también la enseñanza y el intercambio de datos médicos [2].

El no encontrarse presencialmente en un lugar para diagnosticar a alguien, el poder monitorizar a un paciente sin que éste se encuentre hospitalizado, el poder aprender y practicar un procedimiento como si estuviera el paciente, el intercambio de información desde diferentes partes del mundo, todas estas posibilidades son hoy reales gracias a la Telemedicina.

2.2. Big Data

Existen diferentes definiciones sobre Big Data, pero la más aceptada es que llamamos Big Data a la gestión y análisis de enormes volúmenes de datos, que se producen y procesan a gran velocidad (incluso en tiempo real) y cuya variedad de formatos es enorme, desde una publicación en una red social, hasta una señal GPS. En lo que se conoce como las “3 v” del Big Data [3,4].

Otro concepto a tener en cuenta es el análisis predictivo que forma parte del Big Data, pues consiste en obtener mediante el análisis de grandes cantidades de datos, nuevas relaciones, patrones o tendencias que nos ayuden a predecir el comportamiento futuro de aquello que queremos conocer [5,6].

En el sector sanitario cada día se recoge y almacena más información, desde investigaciones con nuevos fármacos o terapias, hasta los historiales médicos de los pacientes. El poder centralizar esa información, analizarla y monitorizarla en tiempo real nos supondría un avance significativo en muchos campos, pues nos permitiría ver correlaciones que a simple vista no se observan. Para ello, pacientes, profesionales, población, instituciones, todo debe estar conectado.

Este potencial del Big Data supondría la llegada de la Medicina 5P que consiste en una medicina Personalizada, Predictiva, Preventiva, Participativa y Poblacional [7].

3. Herramientas de Big Data en Telemedicina

En este apartado vamos a focalizarnos en algunas de las herramientas de tratamiento de sistemas Big Data que existen actualmente para Telemedicina y en qué consiste cada una, para qué se utiliza y cómo ha ayudado a mejorar lo que existía anteriormente. Se ha tratado de abarcar todas las áreas del sector sanitario. Tras ello, podremos realizar un estudio comparativo sobre las mismas.

3.1. PatientsLikeMe

Es, al mismo tiempo, una red de pacientes y una plataforma web de investigación que alberga los datos y tratamientos de más de 500.000 personas con más de 2.700 enfermedades diferentes [8].

Sus fundadores, los hermanos Jamie y Benjamin Heywood, trataban de poner en marcha una plataforma de intercambio de información sobre pacientes con ELA, donde pudieran hablar de sus tratamientos y contar sus historias. Se ha convertido en mucho más que eso. Además de recoger toda la información que los pacientes van intercambiando, la clasifica en diferentes grupos, de tal manera que se puede conocer el tratamiento y evolución de un paciente a través del tiempo.

En el momento en que la gente empezó a compartir toda esta información, se dieron cuenta del poder que esto tenía y de las amplias posibilidades si llegaba a las manos adecuadas, y así desarrollaron su modelo de negocio, vendiendo esta información a diferentes compañías, desde farmacéuticas a centros de investigación de alguna enfermedad o universidades. El objetivo es crear la mayor red de pacientes del mundo, pues esta información anónima supone una enorme fuente de datos en tiempo real para cualquier estudio que se quiera realizar, datos que, de otra manera, costaría mucho dinero y esfuerzo poder reunir.

3.2. MedISys

Se trata de una herramienta de monitorización que busca, analiza y monitoriza alrededor de 900 webs especializadas en salud y más de 20.000 páginas relacionadas con unos 7.000 portales generales y 20 de noticias; todo esto en 70 idiomas. La idea es identificar rápidamente cualquier amenaza para la salud pública, desde enfermedades a plagas, pasando por sustancias psicoactivas [9,10].

Además del análisis, muestra la información en tiempo real, a través de informes, disponibles en 42 idiomas, que pueden mostrar diferentes temas o fuentes de información según el usuario considere oportuno.

3.3. EuResist

La enfermedad del VIH tiene, actualmente, diferentes tratamientos que conllevan el uso de numerosos fármacos. Se pretende adaptar la medicación al paciente, pues las respuestas de unos y otros son muy diferentes. Por ello, resulta muy complicado acertar a la primera con el tratamiento más adecuado para cada enfermo. Existe además la dificultad añadida de que el cuerpo se va

haciendo, poco a poco, inmune a la medicación, por lo que cada cierto tiempo es necesario cambiarla [11].

EuResist surgió por la necesidad de poder determinar el mejor tratamiento contra el VIH para cada paciente. Se vio la posibilidad de que el Big Data pudiera ayudar a la toma de esta decisión y así mejorar la calidad de vida del enfermo desde el principio.

Lo primero que se llevó a cabo fue la unión de bases de datos de VIH de Alemania, Italia y Suecia con un total de más de 62.000 pacientes. Después, con la ayuda de la Unión Europea y bajo el nombre del proyecto *The EuResist Network GEIE* se desarrolló el sistema capaz de analizar esa información y decidir qué tratamiento es el más adecuado. En la actualidad, el porcentaje de aciertos es superior al 77% de los casos [12].

3.4. WuXi NextCODE

Se trata de una compañía que utiliza Big Data en información genómica para ayudar a realizar investigaciones que mejoren la salud de las personas [13]. Cuentan con una plataforma capaz de organizar, analizar y compartir esa información, y es la única con información a nivel de población y no de personas.

3.5. Predixion software

Se trata de un software que se instala en diferentes aparatos médicos, desde ultrasonidos a medidores de glucosa, y que monitoriza en tiempo real el estado de los mismos. Además, utiliza la tecnología Big Data para analizar ese estado y predecir cualquier anomalía que pueda afectar al estado de la máquina [14].

La tecnología *Predixion* permite acceder al estado de cada aparato desde una pantalla centralizada, de manera que en todo momento podemos ver si funciona correctamente. De esta manera, se permite planificar las intervenciones médicas en función de información real sobre las máquinas disponibles. También permite observar con antelación si existe algún síntoma de problema, pudiendo darle solución incluso antes de que ocurra, y conocer el rendimiento del aparato.

3.6. Practice Fusion

Es una compañía estadounidense que nació para ofrecer a centros de salud y hospitales la gestión y el almacenamiento de los historiales médicos de los pacientes. Actualmente, es la mayor plataforma de este tipo en EEUU, contando con más de 38 millones de historiales que representan alrededor del 6.7% del total. También cuenta con la integración de este sistema en numerosas áreas como laboratorios o centros de procesado de imágenes [15].

La plataforma almacena los historiales y analiza los datos que hay en ellos, creando alertas o recomendaciones en tiempo real que ayudan a los doctores en la toma de decisiones. Ofrecen para ello una interfaz de comunicación con los profesionales sencilla e intuitiva, teniendo otra, también, para los pacientes. Ambos pueden hacer un seguimiento de las visitas, tratamientos, enfermedades, etc. que han ido teniendo.

3.7. Verily

Es una compañía que desarrolla herramientas para recoger y organizar información relacionada con la salud [16]. Cuentan con numerosos proyectos relacionados con Big Data, entre los que podemos destacar *Onduo*, una herramienta colaborativa entre *Sanofi* y *Verily* que busca mejorar la calidad de vida de los pacientes con diabetes tipo 2.

3.8. IBM Watson Health

Se trata de un sistema capaz de *entender* todos los tipos de información como lenguaje natural, imágenes, texto, incluso sin estructura, o audio. Además, es capaz de *razonar* y dar recomendaciones, basadas no sólo en la evidencia, también en el todo o personalidad de la persona que lo pide. Es también capaz de aprender automáticamente, a través de numerosos algoritmos, y puede interactuar con seres humanos.

Pensando en lo útil que serían todas estas capacidades en otras disciplinas como la salud, se empezó a colaborar con diferentes universidades con el objetivo de aprovechar *Watson* para recolectar y analizar toda la información que generamos como pacientes y profesionales para poder ofrecer mejores soluciones, incluso en tiempo real [17].

El propósito de la colaboración entre *Watson* y diferentes instituciones investigadoras sobre el cáncer fue mejorar y acelerar la capacidad de los profesionales para emitir un diagnóstico. Esta nueva manera de procesar la información permite reducir los tiempos de semanas a minutos, con lo que eso conlleva para la salud y el bienestar de los pacientes [18].

4. Comparativa

4.1. Áreas del sector sanitario

La gestión de hospitales y centros de salud cubre un amplio espectro, desde los procesos internos del hospital, pasando por la optimización de recursos hasta los sistemas informáticos. Debido a la mayor demanda sanitaria y a la falta de más recursos que anteriormente, la gestión sanitaria se ha vuelto un reto aun mayor. Hemos tratado en el apartado anterior dos herramientas de Big Data que forman parte de esta área, *Practice Fusion* y *Predixion software*. Estas herramientas pertenecen a diferentes áreas del proceso de gestión y actúan de manera independiente; sin embargo, ambas forman parte de un todo llamado gestión sanitaria. Durante esta investigación, se ha echado en falta el desarrollo de un plan de implantación de Big Data, donde se identifiquen las diferentes áreas y se vayan abordando una a una, haciendo que cada pieza forme parte de un todo.

El diagnóstico y la ayuda en la toma de decisiones cuentan con numerosas herramientas de Big Data, *PatientsLikeMe*, *Practice Fusion*, *WuXi NextCODE* e *IBM Watson Health*.

Las investigaciones médicas y farmacología pueden hacer uso de tres herramientas, *PatientsLikeMe*, *WuXi NextCODE* e *IBM Watson Health*.

La prevención de enfermedades gracias a los hábitos saludables o la identificación de poblaciones de riesgo, cuenta con *Practice Fusion* y *Verily* como herramientas que aportan valor.

Herramientas como *MedISys* permiten identificar y monitorizar situaciones de alerta médica. Como cualquier herramienta basada en crowdsourcing, la veracidad de la información y su utilidad deberán ser contrastadas para poder garantizar la utilidad de la información final inferida. Para ello, resulta fundamental disponer de información de fuentes oficiales, por ejemplo, de las agencias de salud de los propios estados miembro.

Podemos decir que, todas las herramientas forman parte de este nuevo conocimiento, más generalizado y al alcance de una mayoría. Aun así, seguimos sufriendo la descentralización del mismo, vemos que hay herramientas muy concretas que proporcionan información sobre enfermedades concretas, haciendo que los profesionales deban utilizar todas y cada una de ellas.

Durante la investigación hemos echado en falta herramientas de Big Data que ayuden en la monitorización de pacientes y enfermedades crónicas. Sabemos que existen numerosas herramientas de monitorización, la mayoría basadas en lo que hoy llamamos Internet de las Cosas, es decir, en dar a los pacientes autonomía para estar en sus casas y poner los aparatos necesarios, bien en su cuerpo, bien en su entorno, para poder monitorizarles, siendo estos capaces de avisar a los profesionales si algo ocurre. Toda esa información sobre el paciente y su entorno que resultaría tan útil para entender su evolución y las causas de lo que le ocurre, no está siendo analizada, y ahí es donde entra en juego el máximo potencial de la monitorización, porque no sólo puedes conocer el estado del paciente y anticiparte a que algo ocurra, puedes utilizar toda esa información para *aprender*, para tomar decisiones y para acceder a nuevo conocimiento.

4.2. Público

La mayoría de las herramientas están pensadas para profesionales de la salud, y abarcan diferentes grupos como Instituciones públicas, Gestores de hospitales o centros de salud, Investigadores o Profesionales médicos. Algunas de estas herramientas, como *Practice Fusion* y *Verily*, tienen una interfaz de usuario, permitiendo que el propio paciente vea su evolución, gestione sus citas o se le hagan recomendaciones sobre hábitos de vida saludables. Otras, como *PatientsLikeMe*, están pensadas directamente para los pacientes.

4.3. Almacenamiento de la información

Al hablar de todas estas herramientas, la información que contienen y analizan, surge la pregunta de ¿dónde está esa información? Y todas ellas tienen, casualmente, la misma respuesta, *en la nube*. Con ello nos referimos a que se encuentran almacenados en centros de datos, accesibles desde cualquier parte y cualquier ordenador. Estos centros de datos pueden ser utilizados en exclusiva por la compañía, o pueden ser compartidos. En ambos casos, la seguridad está garantizada y únicamente el que debe

acceder a ello, puede hacerlo. Esto ofrece una capacidad mayor de almacenamiento y grandes recursos [19,20].

5. Conclusiones

Podemos afirmar que la evolución del sector sanitario pasa por unirse a las nuevas tecnologías como Big Data. Esta tecnología ofrece la posibilidad de procesar y analizar grandes volúmenes de información en tiempo real, obteniendo de ella un potencial hasta ahora inimaginable. Además, ofrece la posibilidad de, no sólo utilizar la información almacenada en la institución de salud, sino también toda aquella que se encuentre en otras herramientas o en la web, como noticias o artículos.

Si añadimos el análisis predictivo a las posibilidades de Big Data, nuevos horizontes se abren ante nosotros. La información que hasta ahora sólo nos indicaba cómo habían sido las cosas en el pasado, puede ayudar a predecir comportamientos, a sacar nuevos patrones o correlaciones, e indicarnos nuevas pistas para el futuro.

Las herramientas utilizadas actualmente en Telemedicina son diversas y abarcan casi todas las áreas de la salud: unas son capaces de monitorizar la salud pública; otras ayudan a la gestión de instituciones sanitarias; las hay que ofrecen nuevas posibilidades a las investigaciones científicas e incluso las que ayudan a prevenir enfermedades y a los profesionales en el diagnóstico. Las posibilidades son inmensas y todas ellas colaboran, desde diferentes aspectos y funciones, a la mejora del conocimiento, acercándonos a la sanidad del futuro, personalizada, predictiva, preventiva, participativa y poblacional.

Asimismo, se deben afrontar una serie de retos. La adopción de estos nuevos sistemas y la relación entre ellos conllevan una inversión inicial de capital, no siempre al alcance, y suponen nuevas maneras de trabajar, pues no sólo profesionales sanitarios van a estar envueltos en estas tecnologías. También debemos tener en cuenta la dificultad de discernir entre la información veraz y la que no lo es, algo siempre complicado al trabajar con volúmenes y variedad de datos tan elevados. Por último, se debe asegurar la privacidad y confidencialidad de la información, requisitos indispensables al manejar información personal. En definitiva, se necesita una planificación a largo plazo, para poder ir consiguiendo poco a poco los objetivos; se necesita ofrecer información y formación a los diferentes agentes involucrados; se necesita desarrollar la tecnología de seguridad necesaria y adaptar las expectativas a la realidad de esta nueva tecnología.

A pesar de los retos, la rentabilidad a largo plazo está asegurada, se calcula que más de 100 billones de € [21] se podrían ahorrar sólo en mejora de la eficiencia de procesos administrativos. Es la única manera de poder seguir teniendo un sistema sostenible a largo plazo.

Referencias

- [1] Artículo en el periódico la Vanguardia: <http://www.lavanguardia.com/vida/20081123/53585155233/google-ya-sabe-que-tendras-la-gripe.html> (Consultado: Agosto 2017).
- [2] Artículo en la página web de World Health Organization: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/194008/1/EB99_30_spa.pdf (Consultado: Agosto 2017).
- [3] McAfee A, Brynjolfsson E. Big Data: The Management Revolution. *Harvard Business Review*. Octubre 2012
- [4] Luo et al. Big Data Application in Biomedical Research and Health Care: A Literature Review. *Biomedical Informatics Insights*, 2016:8 1–10.
- [5] Kruse, C. S., Goswamy, R., Raval, Y., & Marawi, S. Challenges and Opportunities of Big Data in Health Care: A Systematic Review. *JMIR Med Inform*. 2016; 4(4).
- [6] Artículo en la página web de Machine learning mastery: <https://machinelearningmastery.com/gentle-introduction-to-predictive-modeling/> (Consultado: Agosto 2017).
- [7] Blog de Deusto: <https://blogs.deusto.es/bigdata/la-medicina-5p-sanidad-y-big-data/> (Consultada: Agosto 2017).
- [8] Página web de PatientsLikeMe: <https://www.patientslikeme.com> (Consultada: Agosto 2017).
- [9] Entrada en la página web de Medical Information System: <https://ec.europa.eu/jrc/en/scientific-tool/medical-information-system> (Consultada: Agosto 2017).
- [10] Rortais, A., Belyaeva, J., Gemo M., Van der Goot, E., Linge, J.P. MediSys: An early-warning system for the detection of (re-)emerging food and feed-borne hazards. *Food Research International*. Elsevier. Volume 43, Issue 5, June 2010, Pages 1553-1556.
- [11] Página web de EuResist: <https://www.euresist.org> (Consultada: Agosto 2017).
- [12] Artículo en la página web de European Commission: https://ec.europa.eu/research/sme-techweb/pdf/success_stories_2013.pdf (Consultado: Agosto 2017).
- [13] Página web de WuXi NextCODE: <https://www.wuxinextcode.com/about-us/> (Consultada: Agosto 2017).
- [14] Página web de Predixion software: <https://greenwavesystems.com> (Consultada: Agosto 2017).
- [15] Página web de Practice Fusion: <http://www.practicefusion.com> (Consultada: Agosto 2017).
- [16] Página web de Verily: <https://verily.com> (Consultada: Agosto 2017).
- [17] Artículo en la página web de IBM: <http://www-03.ibm.com/press/us/en/pressrelease/46748.wss> (Consultado: Agosto 2017).
- [18] Artículo en la página web de Mediatrends: <https://www.mediatrends.es/a/119232/ibm-watson-que-es-ia-inteligencia-artificial/> (Consultado: Agosto 2017).
- [19] Artículo en la página web del Instituto de ingeniería del conocimiento: <http://www.iic.uam.es/innovacion/big-data-la-nube-servicios-cloud/> (Consultado: Agosto 2017).
- [20] Vatsalan, D, Sehili, Z, Christen, P, Rahm, E. Privacy-Preserving Record Linkage for Big Data: Current Approaches and Research Challenges. *Handbook of Big Data Technologies*. 2017
- [21] Artículo en la página web de McKinsey: <http://www.mckinsey.com/business-functions/digital-mckinsey/our-insights/big-data-the-next-frontier-for-innovation> (Consultado: Agosto 2017).

Diseño de una Interfaz entre la Monitorización del Enfermo Crítico y el Sistema Domótico de una Unidad de Cuidados Intensivos Inteligente

B. Corrêa Volpini¹, J.M. Nicolás Arfelis², N. Vidal Martínez³, P. Castro Rebollo², S. Fernández Mendez²

¹ Fundació Clínic per a la Recerca Biomèdica, Barcelona, España, bcorrea@clinic.cat

² Área de Vigilancia Intensiva, Hospital Clínic de Barcelona, Universidad de Barcelona, Barcelona, España, {nicolas, pcastro, sfernand}@clinic.cat

³ Departamento de Electrónica, Facultad de Física de la Universidad de Barcelona, Barcelona, España, nvidal@ub.edu

Resumen

En este trabajo se presenta el desarrollo de un prototipo de una interfaz entre la monitorización del enfermo crítico y el sistema domótico de una Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) inteligente. Se busca prestar un proceso asistencial más seguro a los pacientes a través de la creación de un entorno domótico en situaciones de riesgo, de la distribución inteligente de la información y de la aplicación de buenas prácticas clínicas. La interfaz está compuesta por la recogida de datos clínicos en tiempo real, por la habilitación de una alerta clínica basada en el análisis de los datos recogidos y por la generación de una respuesta domótica en la unidad. El funcionamiento global de la interfaz y la activación de tres tipos de alertas clínicas – el Código Azul, Rojo y Amarillo – son simulados usando un software experimental. La interfaz desarrollada sería una herramienta útil en el proceso de decisión clínica, dado que podría anticipar los eventos clínicos y adaptarse a las prácticas clínicas diarias realizadas en la UCI.

1. Introducción

La complejidad de la práctica médica puede provocar en ocasiones una combinación de factores que den lugar a eventos adversos prevenibles en la salud del paciente [1]. Para minimizarlos, el Hospital Clínic de Barcelona (HCB) está llevando a cabo diversas iniciativas que se centran en tres pilares principales: el uso de la tecnología, la comunicación de la información clínica, y la formación del personal médico a través de formación continuada [2]. El HCB es considerado uno de los mejores centros sanitarios de referencia de España e incluso de ámbito internacional, teniendo una larga tradición en investigación e innovación. La Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) es un área hospitalaria en la cual se realiza el cuidado de pacientes críticos y que está aplicando estos tres pilares de la investigación.

Los dispositivos médicos conectados a los pacientes en una UCI – como las bombas de infusión, las máquinas de hemofiltración, los monitores de signos vitales, así como los ventiladores mecánicos – son responsables del 30% de los incidentes críticos que podrían desencadenar un evento adverso prevenible [3][4]. Así, por ejemplo, las alarmas sonoras generadas por los monitores de signos

vitales, crean fatiga en el personal médico, dado que sólo un 15% del total de estas alarmas tienen significado clínico relevante, comprometiendo la seguridad de los pacientes [5].

Algunos autores proponen el uso de la inteligencia artificial y de la estadística avanzada para reducir las falsas alarmas generadas por los dispositivos médicos. El método ANOVA [6], la técnica del *data mining* [7] y los algoritmos de *machine learning* [8] están entre los más estudiados. Otros autores proponen el uso de sistemas de detección precoz de deterioro [9], que usan un algoritmo para evaluar un conjunto de parámetros vitales de los pacientes durante su estancia y, consecuentemente, predicen situaciones potenciales de riesgo.

El término *domótica* se define como el conjunto de tecnologías usadas para automatizar de forma inteligente las viviendas, aportando seguridad y confort a los usuarios [10][11]. Los sistemas domóticos permiten hacer una gestión eficiente del uso de la energía y establecer comunicación entre el usuario y el sistema. Además, también permiten controlar las luces, puertas, ventanas, persianas, sistemas de audio, climatización, alarmas de incendio, electrodomésticos y la telecomunicación, entre otros dispositivos. La domótica también puede ser aplicada en otros entornos, como en la industria, hoteles, hospitales, edificios comerciales, espacios públicos y universidades.

Concretamente en el entorno hospitalario, la domótica viene siendo aplicada bajo el concepto de “inteligencia en el entorno”, propuesta por Weiser en 1991[12]. En este caso, las tecnologías están completamente integradas en el diseño de los entornos, sin que el usuario se dé cuenta, y son capaces de identificar sus necesidades, así como el momento y el lugar donde son requeridas. Cuando una nueva emergencia hospitalaria ocurre en un entorno inteligente, este entorno es capaz de adaptarse de la mejor manera posible para ayudar al personal médico en el proceso asistencial.

Un hospital inteligente es un hospital donde todos los procesos están automatizados, interconectados y bajo las tecnologías de la información y comunicación (TIC) para

lograr una mejor atención y cuidado de los pacientes, así como para introducir nuevas funcionalidades en el entorno [13][14]. El objetivo del presente trabajo consistió en desarrollar un prototipo de una interfaz entre la monitorización del enfermo crítico y el sistema domótico de una UCI inteligente. Se busca prestar un proceso asistencial más seguro a los pacientes a través de la creación de un entorno domótico en situaciones potenciales de riesgo, de la distribución inteligente de la información y de la aplicación de buenas prácticas clínicas.

El artículo está dividido en 4 secciones. En la sección 2 y en la sección 3 se presenta la arquitectura y el desarrollo del prototipo de la interfaz, respectivamente. Finalmente, en la sección 4 se exponen las principales conclusiones y futuras direcciones.

2. Arquitectura

La arquitectura de la interfaz entre la monitorización clínica y la domótica de una UCI inteligente está dividida en tres partes, tal como se enseña en la Figura 1.

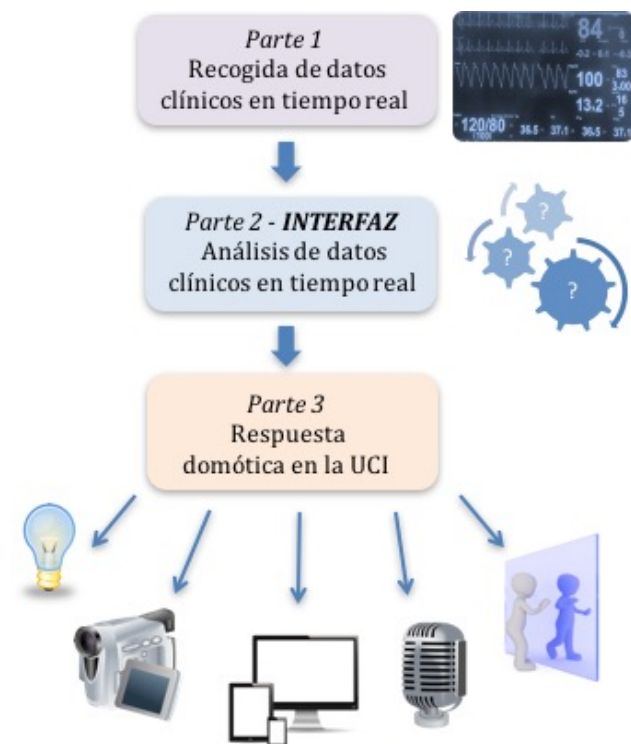


Figura 1. Arquitectura de la interfaz entre la monitorización del enfermo crítico y el sistema domótico de una UCI inteligente.

La primera parte del proyecto está constituida por la recogida de datos clínicos provenientes de los dispositivos de monitorización clínica. Los datos obtenidos en tiempo real son guardados en una base de datos de un servidor de pruebas en una red aislada y protegida contra ciberataques. Además, es importante resaltar que la información demográfica que identifica al paciente no es recogida. Se asigna un código interno y único para cada individuo.

A continuación, en la segunda parte, los médicos y las enfermeras habilitarían una alerta clínica personalizada para cada paciente a través de una interfaz, que contiene

una combinación lógica de los parámetros vitales de más interés. Esta interfaz estaría instalada en los ordenadores de control de la enfermería y en las tablets usadas por las enfermeras en el momento de la atención al paciente. Una vez que la alerta clínica fuese habilitada por el personal médico o fuese habilitada de forma automática por la detección de un nuevo ingreso en la unidad, la interfaz analizaría los datos de forma continua y detectaría las alertas previamente habilitadas.

Por último, en la tercera parte, cuando ocurriera la activación de una de las alertas, la interfaz generaría una respuesta domótica en la UCI, modificando su entorno físico y transmitiendo información útil basada en el rol de cada profesional y en el contexto clínico de cada paciente en un determinado momento. La respuesta domótica está constituida por la ejecución de acciones ambientales predefinidas, que pueden ser clasificadas en dos categorías: acciones audiovisuales y acciones informativas.

Las acciones audiovisuales programadas en la interfaz son:

- Activación de un conjunto de luces dentro de la habitación del paciente y en la estación de enfermería.
- Apertura automática de las puertas de las habitaciones.
- Los cristales de las puertas y ventanas de las habitaciones se vuelven opacos.
- Conexión de la video-monitorización.
- Alerta sonora característico emitido por los altavoces de la estación de enfermería.
- Alerta visual a través de los dispositivos móviles de la estación de enfermería, que incluyen las tablets, los ordenadores y los monitores de televisión.

Las acciones informativas implementadas en la interfaz engloban:

- Notificación de la alerta clínica al personal médico responsable en todo el hospital a través de los móviles.
- Geo-localización del personal médico que está dentro de la UCI usando los sistemas de localización en tiempo real y respectiva notificación de la alerta a través de las tablets de la ubicación de donde se encuentra.
- Distribución de la información clínica de interés de forma adaptativa y dinámica en el propio entorno.
- Informe sobre las tendencias de los parámetros clínicos al personal médico.

Las notificaciones informan sobre la ubicación donde ha ocurrido la alerta clínica y sobre cómo evoluciona la situación de gravedad del paciente. Para generar la respuesta domótica en la UCI descrita arriba la unidad necesita estar dotada de un conjunto de módulos electrónicos inteligentes (MEIs) – sensores y actuadores – que se intercomunican a través de la red por cable y/o por Wifi. Cuando haya una alerta clínica, el servidor de los datos clínicos establece una conexión segura con los MEIs usando el protocolo HTTPS y el certificado SSL del hospital. El desarrollo de los elementos de la arquitectura

del presente trabajo será descrito con más detalle a continuación.

3. Desarrollo

Una aplicación de escritorio fue desarrollada en C# usando Visual Studio [15] y la base de datos MySQL [16] para simular el funcionamiento de todo el sistema. Hemos usado un maniquí de soporte vital avanzado de Laerdal® para obtener datos clínicos experimentales en tiempo real.

La aplicación lee los datos del monitor de signos vitales que está conectado al maniquí y empieza a analizar los datos cuando una alerta clínica es habilitada. Cuando una alerta clínica es detectada, un conjunto de acciones audiovisuales e informativas son ejecutadas en el entorno de la UCI.

Para clasificar las alertas clínicas según la gravedad de los pacientes y poder proporcionarles la atención necesaria, hemos definido tres tipos de alertas: el Código Azul, el Código Rojo y el Código Amarillo.

El Código Azul es conocido en el entorno hospitalario por ser una alerta que se activa en el caso de un paro cardiorrespiratorio (PCR) [17], una de las situaciones de alto riesgo para la vida de los pacientes. Es un sistema que genera una rápida respuesta de un equipo sanitario preparado para realizar las maniobras de reanimación cardiopulmonar, la cual debe realizarse en el menor tiempo posible, de forma organizada, sistemática y eficiente, logrando la reducción de la morbi-mortalidad de los pacientes en PCR.

El Código Rojo fue definido por nosotros como un código de alerta de riesgo intermedio dentro de la UCI. Puede ser personalizado para cada paciente o puede ser activado por un algoritmo previamente establecido. Este código fue concebido para notificar a las enfermeras del inicio de la deterioración del estado clínico del paciente y que merece una mayor vigilancia por su parte, para que no se vuelva una situación de alto riesgo.

El Código Amarillo también fue definido por nosotros como un código usado para las situaciones en que es necesario tener privacidad dentro de las habitaciones de la unidad. Cuando este código está activado, los profesionales de la unidad y los profesionales ajenos al servicio no pueden entrar dentro de la habitación. Entre las diversas situaciones, se pueden citar los momentos de la realización de los procedimientos clínicos (pruebas diagnósticas, administración de medicamentos, colocación de catéteres o fisioterapia, entre otros), de la realización de la higiene del paciente y del horario de visitas.

La página principal de la interfaz de la aplicación usada para simular la respuesta domótica del Código Azul, Rojo y Amarillo se muestra en la Figura 2. El prototipo ha tenido en cuenta el diseño de la distribución arquitectónica de una de las UCIs médicas presentes en el HCB. Esta UCI posee cinco habitaciones, llamadas comúnmente “boxes” y numeradas de 0 a 4. Los boxes están aislados acústicamente, por una puerta de cristal, y están dispuestos alrededor de una estación de enfermería

permitiendo una monitorización visual continua de los pacientes. Dentro de los boxes, los pacientes están conectados a muchos dispositivos médicos de monitorización de soporte vital y se genera una enorme cantidad de datos continuamente.

Las acciones audiovisuales e informativas predefinidas para la activación y desactivación de cada código fueron simuladas usando esta aplicación. Adicionalmente, se han considerado las distintas categorías de profesionales que trabajan en la unidad y se han dividido en tres grupos: médico, enfermero y auxiliar. Las familias también son identificadas como un grupo.

La gestión inteligente de los códigos de la UCI está compuesta por una lógica de prioridades, que permite notificar y enseñar, en primer lugar, las alertas de más importancia y posteriormente las de menos importancia, tanto en la propia unidad como a través de los dispositivos móviles de los profesionales que puedan encontrarse en otras ubicaciones del hospital.

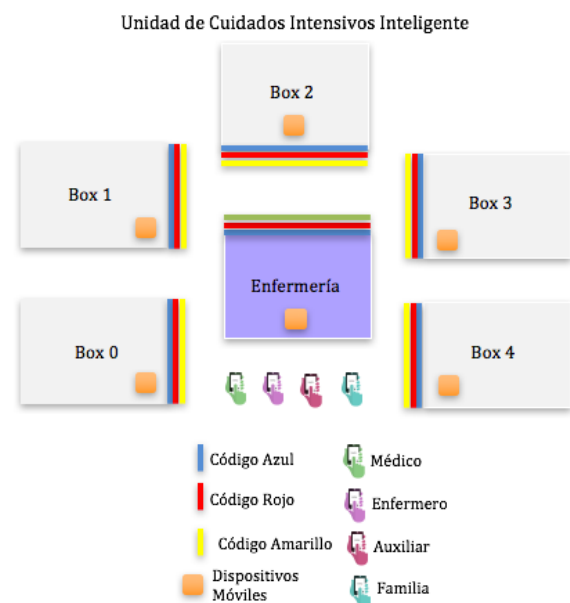


Figura 2. Página principal de la interfaz en la cual se presenta la visualización de la distribución de la información en una UCI del HCB.

4. Conclusiones y Futuras Direcciones

Se ha diseñado un prototipo de una interfaz entre la monitorización del enfermo crítico y el sistema domótico de una Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) inteligente. La interfaz está compuesta por tres partes: la recogida de datos clínicos en tiempo real, la habilitación de una alerta clínica con el respectivo análisis de los datos y la generación de una respuesta domótica en la UCI. Se desarrolló una aplicación para simular el funcionamiento de la interfaz usando el diseño de la distribución arquitectónica de una de las UCIs del HCB.

Esta interfaz sería útil para optimizar el tiempo de respuesta del proceso asistencial en situaciones de emergencia, además de facilitar el trabajo del equipo médico y ser un soporte a la decisión clínica. También podría ayudar a identificar situaciones puntuales de riesgo

y a reducir el número de eventos adversos prevenibles en los pacientes ingresados, mejorando la seguridad de los pacientes en los hospitales. Por tanto, se pretende hacer que la interfaz pueda anticipar los eventos clínicos y adaptarse a las prácticas clínicas diarias realizadas en una UCI. El próximo paso será integrar la actual interfaz a un entorno domótico real y hacer más pruebas con un maniquí de soporte vital avanzado para valorar la fiabilidad de todo el sistema.

Agradecimientos

Agradecemos a los médicos y a las enfermeras de las UCIs del HCB por aportarnos conocimientos, ideas y sugerencias en el diseño de la interfaz.

Referencias

- [1] P. Instruccionales, EVALUACIÓN DE LA FRECUENCIA DE EVENTOS ADVERSOS Y MONITOREO DE ASPECTOS CLAVES RELACIONADOS CON LA SEGURIDAD DEL PACIENTE, (n.d.). <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/CA/Evaluar-frecuencia-eventos-adversos.pdf> (accessed September 10, 2017).
- [2] Qui som | Hospital Clinic Barcelona, (n.d.). <http://www.hospitalclinic.org/ca/el-clinic/qui-som> (accessed September 29, 2017).
- [3] I.D. Welters, J. Gibson, M. Mogk, R. Wenstone, Major sources of critical incidents in intensive care, (n.d.). doi:10.1186/cc10474.
- [4] D. Massey, L.M. Aitken, W. Chaboyer, The impact of a nurse led rapid response system on adverse, major adverse events and activation of the medical emergency team, *Intensive Crit. Care Nurs.* 31 (2015) 83–90. doi:10.1016/j.iccn.2014.11.005.
- [5] O.M. Cho, H. Kim, Y.W. Lee, I. Cho, Clinical Alarms in Intensive Care Units: Perceived Obstacles of Alarm Management and Alarm Fatigue in Nurses., *Healthc. Inform. Res.* 22 (2016) 46–53. doi:10.4258/hir.2016.22.1.46.
- [6] X. Hu, M. Sapo, V. Nenov, T. Barry, S. Kim, D.H. Do, N. Boyle, N. Martin, Predictive combinations of monitor alarms preceding in-hospital code blue events, *J. Biomed. Inform.* 45 (2012) 913–921. doi:10.1016/j.jbi.2012.03.001.
- [7] S. Agarwal, S.K. Sinha, Data mining based pervasive system design for Intensive Care Unit, in: 2014 Int. Conf. Comput. Commun. Informatics, IEEE, 2014: pp. 1–6. doi:10.1109/ICCCI.2014.6921725.
- [8] L. Chen, A. Dubrawski, D. Wang, M. Fiterau, M. Guillame-Bert, E. Bose, A.M. Kaynar, D.J. Wallace, J. Guttendorf, G. Clermont, M.R. Pinsky, M. Hravnak, Using Supervised Machine Learning to Classify Real Alerts and Artifact in Online Multisignal Vital Sign Monitoring Data*, *Crit. Care Med.* 44 (2016) e456–e463. doi:10.1097/CCM.0000000000001660.
- [9] D. Hanley, D. Abele, A.J. Alley, K. Smith, N.W. Gaden, N. Phoenix Bittner, Creating a Culture of Safety Through Integration of an Early Warning System, *JONA J. Nurs. Adm.* 46 (2016) 63–68. doi:10.1097/NNA.0000000000000296.
- [10] Qué es Domótica - CEDOM | Asociación Española de Domótica e Inmótica, (n.d.). <http://www.cedom.es/sobre-domotica/que-es-domotica> (accessed September 10, 2017).
- [11] V. Miori, D. Russo, C. Concordia, Meeting People's Needs in a Fully Interoperable Domotic Environment, *Sensors*. 12 (2012) 6802–6824. doi:10.3390/s120606802.
- [12] M. Weiser, The Computer for the 21st Century, (n.d.). <https://www.ics.uci.edu/~corps/phaseii/Weiser-Computer21stCentury-SciAm.pdf> (accessed September 10, 2017).
- [13] Smart hospitals - EU Law and Publications, (n.d.). <https://publications.europa.eu/es/publication-detail/-/publication/bddc7eec-bc48-11e6-a237-01aa75ed71a1> (accessed June 28, 2017).
- [14] What is an Intelligent Hospital? - IEEE PULSE, (n.d.). <https://pulse.embs.org/november-2014/intelligent-hospital/> (accessed September 10, 2017).
- [15] IDE de Visual Studio, editor de código, Team Services y Mobile Center, (n.d.). <https://www.visualstudio.com/es/?rr=https%3A%2F%2Fwww.google.es%2F> (accessed September 9, 2017).
- [16] MySQL, (n.d.). <https://www.mysql.com/> (accessed September 9, 2017).
- [17] S.E. Eroglu, O. Onur, O. Urgan, A. Denizbasi, H. Akoglu, Blue code: Is it a real emergency?, *World J. Emerg. Med.* 5 (2014) 20–3. doi:10.5847/wjem.j.1920-8642.2014.01.003.

Modelado I

Miércoles, 29 de Noviembre

Inclusión de información a priori en la solución del problema inverso de electrocardiografía durante fibrilación auricular

Miguel Ángel Cámara Vázquez¹, Víctor Suárez-Gutiérrez¹, Ismael Hernández^{1,2}, Felipe Alonso-Atienza¹, Carlos Figuera¹, María S. Guillem², Andreu M. Climent³, Óscar Barquero-Pérez¹

¹ Dpto. de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad Rey Juan Carlos, Madrid, España, {miguelangel.camara, victor.suarez.gutierrez, ismael.hernandez, felipe.alonso, carlos.figuera, oscar.barquero}@urjc.es

² Instituto ITACA, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, {mguisan@eln.upv.es}

³ Servicio de Cardiología, Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón (IiSGM), CIBERCV, Madrid, España, {acliment@cibercv.es}

Resumen

Los métodos de regularización utilizados para resolver el problema inverso de electrocardiografía se enfrentan a importantes limitaciones en situaciones de fibrilación auricular (FA), por lo que cualquier información a priori disponible durante un estudio electrofisiológico puede permitir importantes mejoras en la precisión de la solución. El método que se propone en este trabajo está basado en la formulación de Tikhonov para problema inverso, en la que se incorpora información extra procedente de medidas intracavitarias ruidosas cerca del endocardio. Debido a la necesidad del uso de dos fuentes diferentes de información (tanto de la estimación de Tikhonov y de las medidas a priori), se necesitan ajustar dos parámetros de regularización utilizando una generalización del método de la curva L. El rendimiento de este nuevo método se ha estudiado utilizando diferentes métricas en el dominio del tiempo. Los resultados muestran que el método propuesto mejora la exactitud de las estimaciones en ritmo sinusal y modelos FA simples y complejos.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es uno de los tipos de arritmia más comunes que se pueden encontrar en la práctica clínica, afectando a más de 33 millones de pacientes en el mundo [1]. Además, esta patología se asocia con un mayor riesgo de embolismo, fallo cardíaco y mortalidad [2]. Para restablecer el ritmo sinusal, se ha propuesto el uso de técnicas de ablación basadas en el aislamiento de fuentes FA [3], y en diferentes trabajos se han desarrollado nuevas estrategias para localizar estas fuentes FA [4,5]. Sin embargo, no existe ninguna técnica clínica establecida que permita identificar de forma segura las regiones donde se localizan las fuentes y donde la ablación sería más efectiva. Ni siquiera los catéteres con mayor número de polos (e.g. 64) son capaces de mapear completamente la aurícula.

Es por ello que se ha propuesto y validado la técnica de imagen electrocardiográfica no invasiva (ECGI) como una forma efectiva de reconstruir la actividad electrofisiológica de la superficie del corazón utilizando potenciales de superficie adquiridos de forma no invasiva en el torso del paciente [6,7]. Sin embargo, el problema inverso en ECGI es un problema mal condicionado (*ill-posed*) y, por tanto, se deben aplicar métodos de regularización que permitan obtener soluciones realistas [8,9]. La técnica de ECGI ha demostrado ser útil en algunos casos con FA. Sin embargo,

mediante las técnicas clásicas de ECGI, los patrones de fibrilación auricular obtenidos son mucho más sencillos de los estimados [3], lo cual apunta a un exceso de regularización. Nuestro objetivo con el presente estudio es evaluar la viabilidad de utilizar un algoritmo de regularización que utilice información obtenida intracavitariamente y que por tanto permita mapear de forma global y precisa la actividad fibrilatoria.

En este trabajo, proponemos un método de regularización basado en la aproximación de Tikhonov para problema inverso que incorpora medidas intracavitarias ruidosas cerca del endocardio, de manera que se pueda comparar su efectividad respecto al método clásico de regularización de Tikhonov clásica. Para la comparación se utilizarán modelos matemáticos realistas con diversos patrones de actividad auricular.

2. Métodos

2.1. Modelos Computacionales

En primer lugar, el problema directo es simulado utilizando modelos computacionales realistas de las dos aurículas (N=2039 nodos) y del torso (M=659 nodos), de manera que se puedan simular los BSP asociados utilizando el método de elementos de contorno (boundary element method, BEM). Los patrones de ritmo sinusal (SR) y FA se simulan a continuación, aplicando los diferentes métodos derivados del método de Tikhonov. Primero, los BSP se referencia al Terminal Central de Wilson, se les añade ruido gaussiano aditivo (SNR = 10, 20, 30 y 40 dB) y se filtran utilizando un filtro paso-banda de Butterworth (orden 4, ($f_{c1}=3$ Hz y $f_{c2}=30$ Hz para modelos FA, $f_{c1}=0$ Hz and $f_{c2}=30$ Hz para SR) [10,11].

Se van a considerar 3 tipos de patrones de propagación:

- Ritmo sinusal normal (SR): el tejido auricular se estimula a 1.2 Hz.
- Patrón FA simple (SAF): representado con un gradiente de frecuencia dominante de derecha a izquierda, con un punto de reentrada funcional localizado en la aurícula derecha, rotando a 7.3 Hz). El resto del tejido se activa a 4.7 Hz.
- Patrón FA complejo (CAF): contiene un 25% de células auriculares bajo condiciones fibróticas [5], y

un punto de reentrada funcional localizado cerca de la vena pulmonar superior derecha (RSPV), rotando a 6.8 Hz. El resto del tejido auricular se activa a 5.4 Hz.

2.2. Problema Inverso

Los potenciales epicárdicos son estimados utilizando diferentes métodos de regularización derivados del de Tikhonov. Asumimos el modelo lineal $\mathbf{y}_t = \mathbf{A}\mathbf{x}_t + \boldsymbol{\epsilon}$ donde $\boldsymbol{\epsilon}$ representa los residuos del modelo. El objetivo es estimar los potenciales epicárdicos \mathbf{x}_t desde los BSP, utilizando la matriz \mathbf{A} . Los métodos basados en Tikhonov analizados en este trabajo son los siguientes.

Regularización de Tikhonov Clásica (Tikh). Utilizado en trabajos anteriores con resultados prometedores sin la necesidad de incorporar información a priori [11]. Este método de regularización normalmente se usa en problemas inversos lineales para estabilizar la solución, penalizando su complejidad. Para obtener los potenciales epicárdicos \mathbf{x}_t en un instante t , la función a minimizar es:

$$\|\mathbf{y}_t - \mathbf{A}\mathbf{x}_t\|_2^2 + \lambda_1 \|\mathbf{L}\mathbf{x}_t\|_2^2 \quad (1)$$

donde \mathbf{y}_t es el vector que contiene las medidas del torso, y λ_1 es el parámetro de regularización global, el cual se calcula utilizando el método de la curva L para todos los instantes de tiempo [11]. La solución de este problema es:

$$\hat{\mathbf{x}}_t = (\mathbf{A}^T\mathbf{A} + \lambda_1\mathbf{L})^{-1}\mathbf{A}^T\mathbf{y}_t \quad (2)$$

La matriz \mathbf{L} puede ser la matriz identidad (Tikhonov de orden 0, g0), el operador gradiente (Tikhonov de orden 1, g1) y el operador Laplaciano (Tikhonov de orden 2, g2).

Regularización de Tikhonov Restringida (Constrained Tikhonov, Cons-Tikh). En este trabajo, proponemos incorporar medidas cercanas al endocardio como una restricción en la formulación de Tikhonov. Es decir, además de la propia regularización de Tikhonov, introducimos un término de regularización adicional, en el cual forzamos a que la solución \mathbf{x}_t en ciertos nodos previamente seleccionados, sea similar a los potenciales \mathbf{x}_{ref} medidos previamente. En este estudio, dichas medidas se han obtenido utilizando 2 catéteres intracavitarios de 64 polos cada uno.

Estas señales de referencia \mathbf{x}_{ref} se contaminan también con ruido gaussiano (SNR=10 dB), comparando los resultados con las señales \mathbf{x}_{ref} limpias. Finalmente, los parámetros de regularización se escogen utilizando el método de la hipersuperficie L [12].

2.3. Métricas de rendimiento

Para evaluar el rendimiento de ambos métodos de regularización, proponemos diferentes métricas, de manera similar a las utilizadas en [11, 13]. La concordancia entre los potenciales reales y estimados $\hat{\mathbf{x}}$ se cuantifica utilizando el RDMS (Relative Difference Measurement Star), el coeficiente de correlación de Pearson (CC) y el error cuadrático medio (RMSE). El RDMS se calcula de la siguiente manera:

$$RDMS = \sqrt{\sum_k \left(\frac{x_k}{\|x\|} - \frac{\hat{x}_k}{\|\hat{x}\|} \right)^2} \quad (5)$$

3. Resultados

Debido a las pequeñas diferencias entre las señales \mathbf{x}_{ref} limpias y ruidosas, los resultados se muestran sin ruido aditivo. En la figura 1 se muestra el rendimiento de cada método de regularización con los modelos SR, SAF y CAF. Los mejores resultados se obtienen con el método Cons-Tikh de primer orden (g1). Existen diferencias estadísticamente significativas entre los métodos Tikh y Cons-Tikh dado un mismo orden ($p < 0.001$), excepto para CC en orden 0. Estas diferencias son favorables al Cons-Tikh, proporcionando una gran mejora utilizando dicho método en orden 1 y orden 2, con valores de CC en torno a 0.9 para SR, tal y como se puede ver en la tabla 1.

Las estimaciones obtenidas para los modelos FA también son mejores con Cons-Tikh, aunque esta mejora es menor en el caso de patrones FA complejos. Estas conclusiones son aplicables al resto de valores de SNR evaluados. Finalmente, cabe destacar que las diferencias entre Cons-Tikh de orden 1 y 2 no son significativas, pero la dispersión es mayor en el método de orden 2.

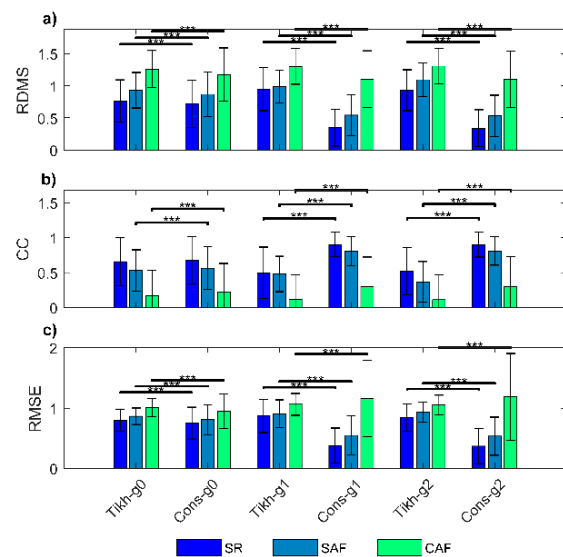


Figura 1 Comparación del RDMS (a), CC (b) y RMSE (c) entre estimaciones obtenidas con diferentes métodos de regularización basados en Tikhonov, con los modelos SR, SAF y CAF.

La figura 2 muestra las señales epicárdicas estimadas para dos nodos diferentes. En el panel izquierdo se puede observar que los potenciales epicárdicos reconstruidos utilizando Cons-Tikh de orden 1 permiten reproducir fielmente las componentes de alta frecuencia de la señal original, evitando el comportamiento de filtro paso bajo característico de la aproximación clásica de Tikhonov. Por otra parte, en el panel derecho, ninguno de los métodos es capaz de reconstruir los potenciales epicárdicos. Sin

	SR			SAF			CAF		
	RDMS	CC	RMSE	RDMS	CC	RMSE	RDMS	CC	RMSE
Tikh g0	0,763	0,655	0,797	0,930	0,529	0,864	1,258	0,166	1,010
Cons g0	0,718	0,675	0,749	0,867	0,563	0,806	1,175	0,224	0,947
Tikh g1	0,947	0,494	0,870	0,988	0,479	0,905	1,301	0,115	1,062
Cons g1	0,346	0,900	0,377	0,541	0,803	0,548	1,100	0,297	1,160
Tikh g2	0,929	0,517	0,840	1,092	0,369	0,935	1,304	0,112	1,050
Cons g2	0,340	0,900	0,368	0,532	0,807	0,534	1,100	0,299	1,184

Tabla 1 Rendimiento de los diferentes métodos de estimación para los modelos SR, SAF y CAF (SNR=20dB): RDMS medio, CC medio y RMSE medio.

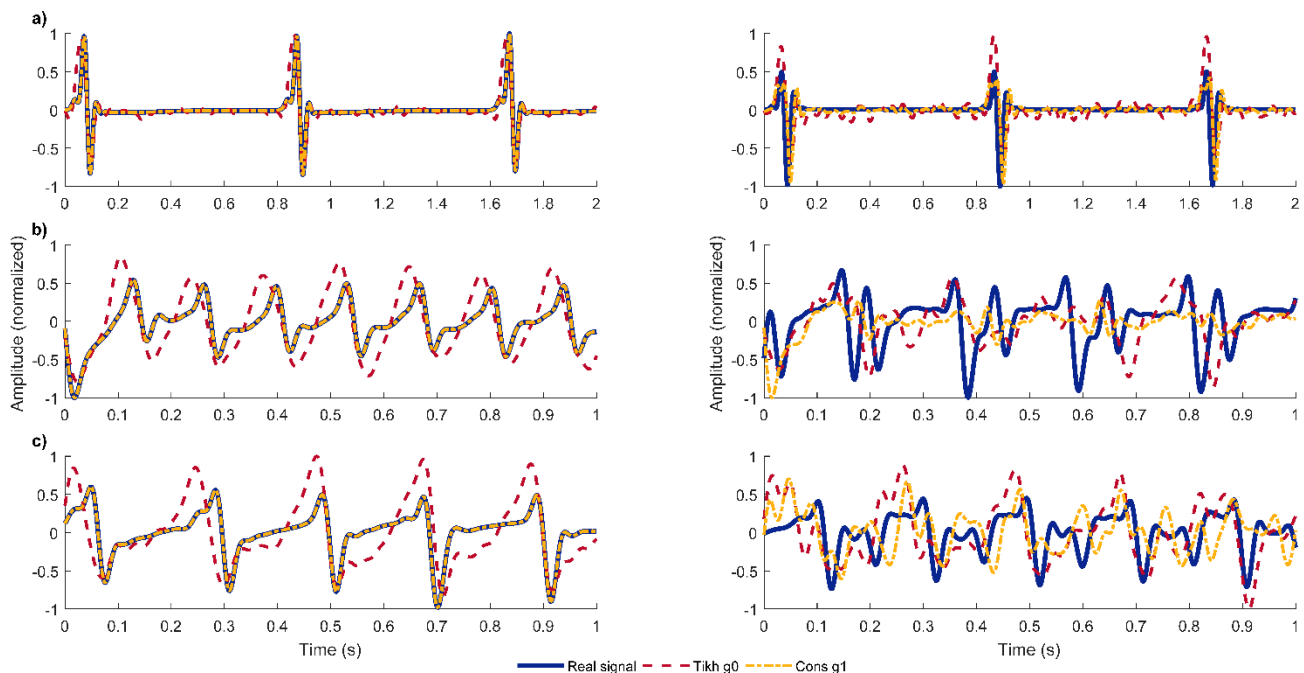


Figura 2 Comparación de las señales reales y estimadas utilizando Tikh de orden 0 y Cons-Tikh de orden 1, en los modelos SR (a), SAF (b) y CAF (c), en dos nodos diferentes (izquierda y derecha).

embargo, las estimaciones obtenidas con Cons-Tikh son mejores que con el método Tikh clásico.

En la figura 3 se muestran los mapas de potenciales epicárdicos obtenidos para cada modelo con los mejores métodos Tikh y Cons-Tikh evaluados. El Cons-Tikh de orden 1 consigue mejorar de manera significativa la formulación Tikh clásica para todos los modelos. Los patrones de propagación se estiman mejor con Cons-Tikh, tanto en SR como en SAF. Sin embargo, en CAF, el rendimiento del estimador es mucho menor, y los patrones de propagación no son fáciles de distinguir.

4. Discusión y Conclusiones

En este trabajo, se ha propuesto un nuevo método de regularización basado en Tikhonov, en el cual se tiene en cuenta información a priori en el problema inverso de ECGI, incorporando una restricción sobre las medidas cerca del endocardio en la formulación de Tikhonov. El modelo propuesto mejora la estimación de los potenciales epicárdicos, principalmente en Cons-Tikh de orden 1, que favorece soluciones planas y constantes, y penaliza

gradientes, permitiendo reproducir componentes de alta frecuencia en la solución. Esta aproximación permite evitar el comportamiento de filtrado paso bajo característico de las aproximaciones clásicas de Tikhonov.

El tiempo de cómputo para Cons-Tikh es mucho mayor que para Tikh clásico, debido a la necesidad de calcular los valores óptimos para dos parámetros en vez de uno. Sin embargo, el número de valores evaluados puede disminuirse si se estudia el rango de parámetros óptimos para un número mayor de modelos.

Respecto a los parámetros de regularización, el método de la hipersuperficie L da un mayor peso a las medidas intracardiacas, y menor a los BSP, pero las diferencias entre modelos y SNR de los BSP (siempre teniendo en cuenta un mismo orden en las formulaciones de Tikhonov) no son significativas. Este era el resultado esperado, ya que la información a priori introducida se corresponde con las propias medidas intracardiacas utilizadas para calcular los BSP que posteriormente son contaminados con ruido para calcular el problema inverso.

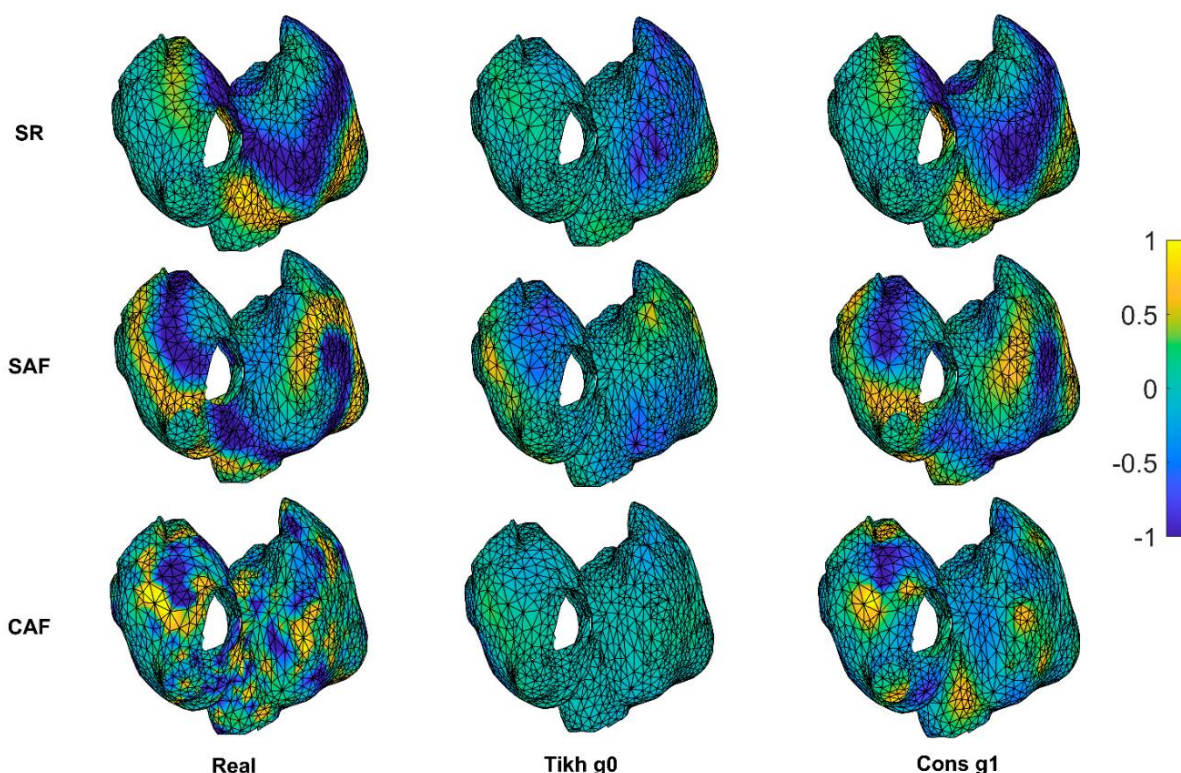


Figura 3 Comparación de los mapas de potenciales epicárdicos reales y estimados, utilizando Tikh de orden 0 y Cons-Tikh de orden 1, en los modelos SR, SAF y CAF.

En conclusión, el presente método ha demostrado una clara mejora respecto al método clásico de reconstrucción mediante ECGI durante FA abriendo el paso hacia la validación clínica del mismo utilizando registros clínicos.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por los proyectos TEC2013-46067-R y IJCI-2014-22178 (Ministerio de Economía y Competitividad, Gobierno de España), DTS16/0160 (Instituto de Salud Carlos III, Ministerio de Economía y Competitividad, Gobierno de España), y ayudas a la investigación de la Sociedad Española de Cardiología.

Referencias

- [1] Burstein B, Nattel S. Atrial fibrosis: mechanisms and clinical relevance in atrial fibrillation. *Am Coll Cardiol*, 2008; 51:802-809.
- [2] V. Fuster, et al. ACC/AHA/ESC 2006 guidelines for the management of patients with atrial fibrillation: full text. *Europace*, 2006; 8(9):651-745.
- [3] Guillem M, Climent A, Rodrigo M, Fernández-Avilés F, Atienza F, Berenfeld O. Presence and stability of rotors in atrial fibrillation: evidence and therapeutic implications. *Cardiovascular Res*, 2016;109(4):480-492.
- [4] Haissaguerre M, Hocini M, Shah AJ, Derval N, Sacher F, Jais P, Dubois R. Noninvasive panoramic mapping of human atrial fibrillation mechanisms: A feasibility report. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology*, 2013; 24(6):711-717.
- [5] Rodrigo M, Climent AM, Liberos A, Calvo D, Fernández-Avilés F, Berenfeld O, et al. Identification of dominant excitation patterns and sources of atrial fibrillation by causality analysis. *Annals of Biomedical Engineering*, 2016; 44(8):2364-2376.
- [6] Brooks DH, Macleod R. Electrical imaging of the heart. *IEEE Signal Process Mag*, 1997;14:24-42.
- [7] Gulrajani R. The forward and inverse problems of electrocardiography. *IEEE Eng Med Biol*, Sep. 1998;17(5):84-101.
- [8] Oster HS, Rudy Y. The use of temporal information in the regularization of the inverse problem in electrocardiography. *IEEE Trans Biomed Eng*, 1992;39:65-75.
- [9] Tikhonov AN, Arsenin VY. Solutions of Ill-posed Problems. *New York: Wiley*, 1977.
- [10] Pedrón-Torrecilla J, Rodrigo M, Climent A, Liberos A, Pérez-David E, Bermejo J, et al. Noninvasive estimation of epicardial dominant high-frequency regions during atrial fibrillation. *Cardiovascular Electrophysiol*, 2016; 27(4):435-442.
- [11] Figuera C, Suárez-Gutiérrez V, Hernández-Romero I, Rodrigo M, Liberos A, Atienza F, Guillem MS, Barquero-Pérez Ó, Climent AM, Alonso-Atienza F. Regularization Techniques for ECG Imaging during Atrial Fibrillation: A Computational Study. *Frontiers in Physiology*, oct 2016; 7:466. ISSN 1664-042X.
- [12] Belge M, Kilmer ME, Miller EL. Efficient determination of multiple regularization parameters in a generalized L-curve framework. *Inverse Problems*, 2002;18:1161-1183.
- [13] Serinagaoglu Y, Brooks DH, Macleod RS. Improved performance of bayesian solutions for inverse electrocardiography using multiple information sources. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, Oct 2006;53(10):2024-2034. ISSN 0018-9294.

Estudio mediante simulación computacional del acoplamiento eléctrico entre miocitos auriculares y fibroblastos en condiciones fisiológicas y de fibrilación auricular crónica

J. Sánchez Arciniegas, B. Trénor, J. Saiz

Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería, Universitat Politècnica de València, Valencia, 46022, España

Resumen

El tejido cardíaco durante la fibrilación auricular crónica experimenta un remodelado electrofisiológico y estructural. La fibrosis en el tejido auricular tiene un impacto importante sobre los potenciales de acción de los miocitos y su propagación. El objetivo de este trabajo es explorar las características de la fibrosis y su impacto en el potencial de acción del miocito. Para ello se han llevado a cabo simulaciones de modelos matemáticos electrofisiológicos de miocitos auriculares humanos y de fibroblastos propuesto por Koivumaki et al. en condiciones fisiológicas y de fibrilación auricular crónica. A nivel celular las simulaciones se han realizado acoplando diferentes números de fibroblastos a un miocito, también se varió el potencial de reposo del fibroblasto en tres valores diferentes. En 1D se han evaluado los efectos sobre la velocidad de conducción en una fibra. Los resultados de las simulaciones a nivel celular muestran como la duración del potencial de acción del miocito depende tanto del número de fibroblastos como de su potencial de reposo. En simulaciones 1D, se observa cómo la velocidad de conducción depende del valor que tome el potencial de reposo del fibroblasto y su densidad en la fibra. Los miocitos afectados por el remodelado durante la fibrilación auricular crónica son menos sensibles a la variación del potencial de reposo de los fibroblastos.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia cardíaca más común. Representa un gran problema para la carga asistencial mundial e incrementa la morbilidad y mortalidad del paciente. Los mecanismos de generación y mantenimiento de la FA no están totalmente esclarecidos [1].

Durante la etapa crónica de la fibrilación auricular (FAc), el tejido auricular sufre un remodelado electrofisiológico y estructural. La densidad de fibroblastos existentes en el tejido aumenta, lo que ocasiona una heterogeneidad en las propiedades eléctricas del tejido auricular que alteran la propagación del potencial de acción, favoreciendo la generación y mantenimiento de reentradas [2].

Distintos estudios sugieren la existencia de acoplamiento eléctrico entre miocitos y fibroblastos, siendo capaz de modificar las características del potencial de acción del miocito [3,4]. También muestran la existencia de un canal iónico que permite un flujo entrante de iones sodio (I_{Na}) en la membrana del fibroblasto [5].

La simulación computacional electrofisiológica celular, brinda la oportunidad de estudiar el impacto de los fibroblastos en la propagación eléctrica. Igualmente brinda la flexibilidad de modificar características de la

electrofisiología celular y analizar sus impactos sobre el potencial de acción del miocito acoplado eléctricamente durante el comportamiento fisiológico normal y durante el remodelado que ocurre en FAc.

En este estudio, se ha actualizado la corriente de sodio del fibroblasto de acuerdo a estudios experimentales recientes y se ha variado su potencial de reposo para analizar su impacto sobre el potencial de los miocitos. Este estudio analiza el efecto del acoplamiento entre miocito y fibroblastos en ritmo sinusal normal (RSn) y en FAc a nivel celular y de tejido 1D.

2. Métodos

2.1. Modelos celulares

En el presente trabajo se han utilizado modelos celulares auriculares de humano de miocitos y fibroblastos [6, 7]. En el modelo celular de fibroblasto se ha actualizado la corriente entrante de sodio de acuerdo a resultados experimentales recientes. El remodelado eléctrico debido a FAc en un miocito es introducido en el modelo mediante una modificación en las conductancias de las corrientes de Ca^{2+} tipo L (I_{CaL}), corriente transiente de salida de K^+ (I_{to}), corriente sostenida saliente de K^+ (I_{sus}), corriente independiente de K^+ (I_{K1}), receptores de ryanodina (RyR) y en el intercambiador Na^+/Ca^{2+} (NCX), en la bomba del retículo sarcoplásmico Ca^{2+} ATPase (SERCA) y en los parámetros de las constantes de tiempo de I_{CaL} , I_{to} y I_{Na} , según se describe en los modelos propuestos por Koivumaki et al. [8].

2.2. Simulación celular (0D)

Para obtener el potencial de acción del miocito se utilizó la ecuación (1)

$$C_m \frac{dV}{dt} + I_{ion} + \sum_{k=1}^n G_{gap} (V_f - V) = 0 \quad (1)$$

Donde C_m es la capacidad de membrana, I_{ion} es el flujo iónico a través de los diferentes canales, V es el potencial de membrana del miocito, n es el número de fibroblastos acoplados a un miocito y G_{gap} es la conductancia del acople entre miocito y fibroblasto. El valor utilizado para G_{gap} fue de 0.5 nS [9]. De la misma manera se varió el número de fibroblastos acoplados un miocito, entre 0 y 9 [7], [10], [11]. También se estudió el efecto del potencial de reposo del fibroblasto (RMPf, por sigls en inglés) en tres valores diferentes (-30, -45 y -65 mV), ya que su valor muestra una gran dispersión en estudios experimentales y difieren entre

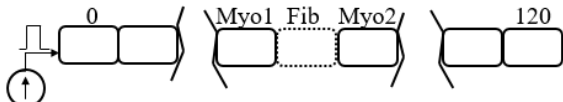
fibroblastos ventriculares y auriculares [5], [12], [10]. Para comparar los resultados se ha medido la duración del potencial de acción en el 90% de la repolarización (APD₉₀).

2.3. Simulación tejido (1D)

Para simular la propagación del potencial de acción a través del tejido auricular, se utilizó la ecuación (2) de reacción-difusión con una aproximación monodominio

$$\nabla(D\nabla V) = C_m \frac{dV}{dt} + I_{ion} \quad (2)$$

Donde D es el coeficiente de difusión, C_m es la capacidad de membrana, I_{ion} son las corrientes a través de la membrana celular. En la fibra, los fibroblastos fueron distribuidos aleatoriamente con dos diferentes densidades (10% y 20%), valores para los cuales la velocidad de conducción empieza a disminuir[4], se varió el potencial de reposo del fibroblasto. El coeficiente de difusión fue calculado utilizando las propiedades geométricas de la célula, y la conductancia de acoplamiento G_{gap} . La conductancia del medio intracelular fue variada para obtener una velocidad de conducción fisiológica en la fibra[13].



Estímulo

Figura 1. Configuración del modelo 1D. Se muestra el número de elementos de la fibra. El estímulo aplicado se introduce a través del primer elemento. Los elementos de medición de las características del potencial de acción son Myo1, Fib y Myo2.

La velocidad de despolarización del potencial de acción es calculada en el centro de la fibra para evitar los efectos de las condiciones de frontera. Fue medida en un fibroblasto y en el miocito de antes y después del mismo como se observa en la *Figura 1*.

2.4. Protocolos de simulación y métodos numéricos

En las simulaciones 0D se varió el número de fibroblastos acoplados a un solo miocito y el potencial de reposo del fibroblasto. Se aplicó un estímulo igual al doble de su umbral. Para la simulación 1D, la ecuación (2) fue resuelta mediante el método de diferencias finitas con una discretización espacial para el miocito de 100 μm y para el fibroblasto de 10 μm con un paso de tiempo de 10 μs . El primer elemento de la fibra fue estimulado con una amplitud el doble de su valor umbral. Ambas simulaciones fueron estimuladas a una frecuencia de 1Hz y partieron de un estado estable.

3. Resultados

3.1. Simulación 0D

De las simulaciones 0D, en la *Figura 2*, observamos el potencial de acción de un miocito auricular en RSn y en FAc. El valor de APD₉₀ de RSn es de 232 ms, con un potencial de reposo de -74.8 mV. Debido al remodelado eléctrico bajo condiciones de FAc, el miocito aislado presenta un APD₉₀ de 168 ms y un potencial de reposo de -79.04 mV.

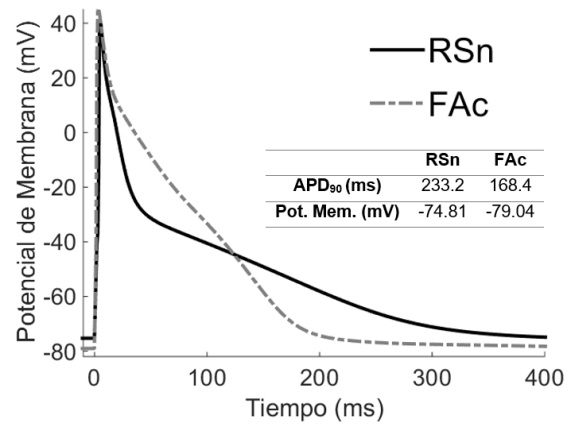


Figura 2. Características del potencial de acción de un miocito aislado en condiciones normales (RSn) y durante fibrilación auricular crónica (FAc).

Los resultados de las simulaciones en 0D muestran cómo los diferentes potenciales de reposo del fibroblasto y el número de fibroblastos acoplados a un miocito pueden alterar su potencial de acción.

Para condiciones de RSn, *Figura 3* (panel A), al ser acoplado con 1 o 3 fibroblastos con un potencial de reposo de -65 mV, su APD₉₀ es reducido al 91.68% y al 78.04% respectivamente de su valor de control (sin fibroblastos acoplados) y su potencial de reposo es reducido al 99.18% y al 96.50% del valor de control. Para un potencial de reposo del fibroblasto de -45 mV, el APD₉₀ es reducido al 94.43% y 70.20% del valor de control y el potencial de reposos del miocito es el 97.36% y el 83.98% con respecto al valor control. En ambos casos el valor de APD₉₀ es reducido y el potencial de reposo del miocito es más despolarizado cuando el fibroblasto presenta un potencial de reposo menos negativo y el número de fibroblastos acoplados es mayor. Por otro lado, cuando el potencial de reposo del fibroblasto es -30 mV y el miocito es acoplado con 1 o 3 fibroblastos, el valor de APD₉₀ es mayor a su valor control (102% y 137% respectivamente), su potencial de reposo disminuye al 98.15% y 80.12% de su valor control. Cuando el miocito es acoplado a 9 fibroblastos su valor de APD₉₀ es reducido al 30% para todos los casos, de la misma manera el potencial de reposo del miocito se ve seriamente despolarizado cuando el potencial de reposo del fibroblasto es menos negativo.

Bajo condiciones de FAc, *Figura 3* (panel B), y para un acoplamiento de 1 o 3 fibroblastos a un miocito y un RMPf de -65 mV, el APD₉₀ es el 90% y su RMP (Potencial de reposo, por sus siglas en inglés), es el 98.78% de su valor control. Sin embargo, cuando el miocito es acoplado a 1 o 3 fibroblastos con un RMPf de -45 mV, el APD₉₀ es 86.82% y 66.75% de valor control y su RMP es 98.14% y 88.86% con respecto al control. Es importante resaltar que cuando el acoplamiento se produce con 1 o 3 fibroblastos con un RMPf de -30 mV, todos los APD₉₀ del miocito se ven reducidos. Podemos observar cómo los miocitos que sufren un remodelado eléctrico debido a FAc, son menos sensibles a sufrir grandes cambios en su APD cuando el RMPf es más positivo.

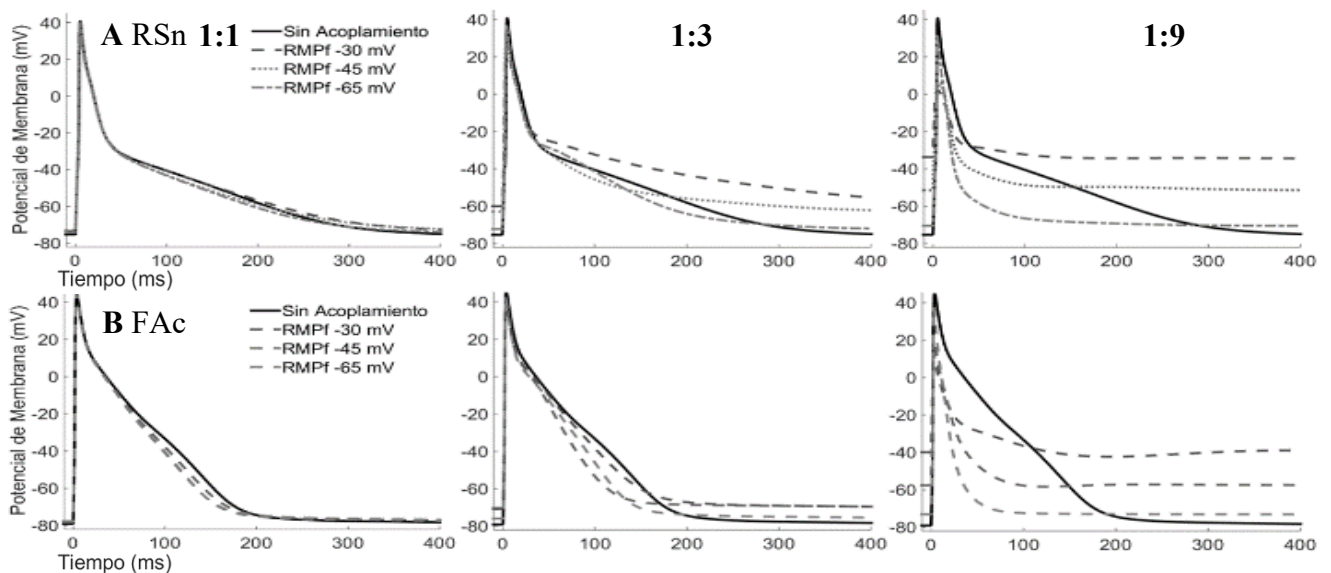


Figura 3. Potenciales de acción, acoplados a diferentes números de fibroblastos y diferentes RMPf. A) Bajo condiciones normales (RSn). B) Durante fibrilación auricular crónica (FAc).

3.2. Simulación 1D

Como se ha observado en las simulaciones en 0D, el acoplamiento de fibroblastos ejerce un efecto en el cambio del potencial de acción del miocito. En las simulaciones 1D, se analizaron las diferentes características del RMPf y su densidad a lo largo de la fibra. Cuando el miocito se encuentra en condiciones fisiológicas la velocidad de conducción a través de la fibra es de 70 cm/s y durante FAc la velocidad de conducción se reduce a 68.6 cm/s.

En la *Figura 4* (columna A), se observa la influencia del acoplamiento de los fibroblastos con los miocitos durante el periodo de despolarización del potencial de acción del miocito. Los valores de dV/dt_{max} durante la despolarización del potencial de acción del miocito es de 103 mV/s y de 100 mV/s en RSn y FAc respectivamente en ausencia de fibroblastos en la fibra.

En RSn la dV/dt_{max} de un miocito localizado antes de un fibroblasto es reducida dependiendo de la densidad de fibroblastos distribuidos en la fibra. Para una densidad del

10% (columna B) y un RMPf de -30 mV, dV/dt_{max} es reducida al 57% de su valor control y el valor para el miocito ubicado luego del fibroblasto es de 47% del control. Con un RMPf de -45 mV (columna D), el valor de dV/dt_{max} es del 65% de su valor control para el Myo1 y del 53% para el Myo2. Cuando la densidad de fibroblastos distribuidos en la fibra es incrementada al 20%, para un RMPf de -30 mV (columna C) dV/dt_{max} en Myo1 es del 60% y en Myo2 es del 37% de su valor control, para un valor de RMPf de -45 mV (columna E) para el primer miocito dV/dt_{max} es del 25% y del 34% para el segundo miocito respecto a su valor control.

Como consecuencia del cambio de dV/dt_{max} , la velocidad de conducción se ve reducida con los valores de RMPf y con el incremento de la densidad de fibroblastos en la fibra. Los resultados de las simulaciones 1D en RSn muestran que para una densidad del 10% y con los tres valores de RMPf la velocidad se ve reducida (87%, 85%, and 63%, respectivamente) con respecto de su valor control sin fibrosis. Cuando la densidad de fibroblastos incrementa al

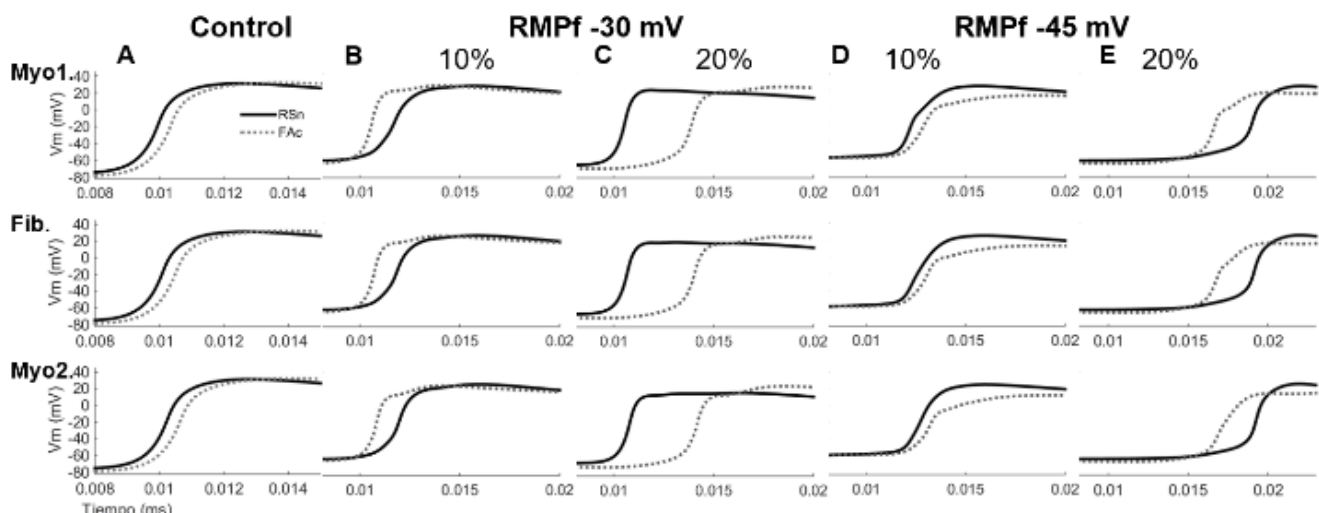


Figura 4. Curvas de despolarización para condiciones de RSn (Ritmo Sinusal normal) y FAc (Fibrilación Auricular crónica). Diferentes valores de RMPf y densidades de fibrosis en una fibra.

20%, la velocidad de conducción no sigue una tendencia de reducción. Para un valor de RMPf de -30 mV, la velocidad de conducción se reduce al 63% del control, para los valores de RMPf de -45 mV y -65 mV la reducción es del 74% y 75% del valor de control.

Durante FAc, los valores de dV/dt_{max} en la fase de despolarización son afectados en menor porcentaje. Para una densidad del 10% y un valor de -30 mV para RMPf, el valor de dV/dt_{max} en Myo1 es de 66% con respecto al control y con un valor de -45 mV de RMPf es del 43% y para Myo2 la reducción es de dV/dt_{max} es del 43% y 41% con respecto al control.

La velocidad de conducción en FAc, para una densidad del 10% y con los tres valores de RMPf muestra un porcentaje de reducción similar que en condiciones fisiológicas. Cuando la densidad de fibroblastos aumenta, la velocidad de conducción disminuye conforme el valor de RMPf es más despolarizado (74%, 71%, and 67% con respecto al control). Adicionalmente, los valores de RMP para los miocitos no se ven afectados.

Los resultados de las simulaciones en 0D y en 1D, muestran que los fibroblastos tiene una gran influencia, tanto en condiciones fisiológicas como durante FAc. Los resultados obtenidos en las simulaciones, concuerdan con resultados experimentales donde la presencia de fibroblastos en tejido cardiaco afecta la despolarización y reducen la velocidad de conducción. Es interesante destacar que durante FAc, la velocidad de conducción tiene una menor variabilidad para diferentes RMPf.

3.3. Limitaciones

Una de las principales limitaciones de este estudio es la escasez de datos experimentales de fibroblastos auriculares humanos y de las propiedades del tejido fibrótico de los que se dispone para ajustar modelos realistas. Además, en las simulaciones no se ha considerado la dilatación del miocito durante FAc y su efecto sobre la difusión. Pese a estas limitaciones, los resultados obtenidos en este estudio pueden considerarse válidos y permiten explorar las características electrofisiológicas de la fibrosis, cuyo papel cobra gran importancia a nivel clínico, en los procedimientos de ablación auricular.

4. Conclusiones

En conclusión, el potencial de acción del miocito es influenciado por el número de fibroblastos acoplados y los diferentes valores del potencial de reposo como se ha podido observar en los resultados y las simulaciones en 0D. En las simulaciones 1D observamos como la velocidad de conducción se ve afectada con la densidad de fibroblastos en la fibra y difieren entre condiciones normales y durante fibrilación auricular.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el “Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación 2013-2016” del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad de España (DPI2016-75799-R) and AEI/FEDER, UE, y por el “Programa Prometeu

(PROMETEU/2016/088) de la Conselleria d'Educació, Formació i Ocupació, Generalitat Valenciana”.

Referencias

- [1] L. Staerk, J. A. Sherer, D. Ko, E. J. Benjamin, and R. H. Helm, “Atrial Fibrillation,” *Circ. Res.*, vol. 120, no. 9, pp. 1501–1517, 2017.
- [2] S. Nattel, “How does fibrosis promote atrial fibrillation persistence: In silico findings, clinical observations, and experimental data,” *Cardiovasc. Res.*, vol. 110, no. 3, pp. 295–297, 2016.
- [3] K. S. McDowell, S. Zahid, F. Vadakkumpadan, J. Blauer, R. S. MacLeod, and N. A. Trayanova, “Virtual electrophysiological study of atrial fibrillation in fibrotic remodeling,” *PLoS One*, vol. 10, no. 2, pp. 1–16, 2015.
- [4] M. Miragoli, G. Gaudesius, and S. Rohr, “Electrotonic modulation of cardiac impulse conduction by myofibroblasts,” *Circ. Res.*, vol. 98, no. 6, pp. 801–810, 2006.
- [5] C. Poulet, S. Künzel, E. Büttner, D. Lindner, D. Westermann, and U. Ravens, “Altered physiological functions and ion currents in atrial fibroblasts from patients with chronic atrial fibrillation,” *Physiol. Rep.*, vol. 4, no. 2, p. e12681, 2016.
- [6] J. T. Koivumäki, T. Korhonen, and P. Tavi, “Impact of sarcoplasmic reticulum calcium release on calcium dynamics and action potential morphology in human atrial myocytes: A computational study,” *PLoS Comput. Biol.*, vol. 7, no. 1, 2011.
- [7] J. Koivumäki et al., “Na⁺ current expression in human atrial myofibroblasts: Identity and functional roles,” *Front. Physiol.*, vol. 5 JUL, no. August, pp. 1–14, 2014.
- [8] J. T. Koivumäki, G. Seemann, M. M. Maleckar, and P. Tavi, “In Silico Screening of the Key Cellular Remodeling Targets in Chronic Atrial Fibrillation,” *PLoS Comput. Biol.*, vol. 10, no. 5, 2014.
- [9] V. Jacquemet and C. S. Henriquez, “Loading effect of fibroblast-myocyte coupling on resting potential, impulse propagation, and repolarization: insights from a microstructure model,” *AJP Hear. Circ. Physiol.*, vol. 294, no. 5, pp. H2040–H2052, 2008.
- [10] K. A. MacCannell, H. Bazzazi, L. Chilton, Y. Shibukawa, R. B. Clark, and W. R. Giles, “A mathematical model of electrotonic interactions between ventricular myocytes and fibroblasts,” *Biophys. J.*, vol. 92, no. 11, pp. 4121–32, 2007.
- [11] M. M. Maleckar, J. L. Greenstein, W. R. Giles, and N. A. Trayanova, “Electrotonic coupling between human atrial myocytes and fibroblasts alters myocyte excitability and repolarization,” *Biophys. J.*, vol. 97, no. 8, pp. 2179–2190, 2009.
- [12] R. Morgan, M. A. Colman, H. Chubb, G. Seemann, and O. V. Aslanidi, “Slow conduction in the border zones of patchy fibrosis stabilizes the drivers for atrial fibrillation: Insights from multi-scale human atrial modeling,” *Front. Physiol.*, vol. 7, no. OCT, pp. 1–15, 2016.
- [13] David M. Harrild, Craig S. Hen, “A Computer Model of Normal Conduction in the Human Atria,” *Circ. Res.*, vol. 87, no. 7, pp. e25–e36, 2000.

Validación del Cálculo y Representación Gráfica de la Mecánica Pulmonar durante la Ventilación Mecánica

F.J. Alvarez Diaz¹, H. Lafuente Echevarria¹, JB Galdiz Iturri¹, E. Hilario Rodriguez², A. Alvarez Diaz²

¹ Instituto Biocruces, Hospital Universitario Cruces, Barakaldo, España, franciscojose.alvarezdiaz@osakidetza.eus

² Departamento Biología Celular e Histología, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Leioa, España

Resumen

Nuestro objetivo consistió en desarrollar un algoritmo que integrase la determinación y representación gráfica de la función pulmonar en tiempo real de pacientes mantenidos en ventilación mecánica.

La fiabilidad y exactitud del algoritmo se cuantificó mediante regresión lineal simple y la determinación del error cometido frente a un sistema estandarizado en uso clínico para los parámetros básicos de ventilación (volumen, presión, flujo), así como para aquellos parámetros calculados (frecuencia, distensibilidad, sobredistensión, resistencia, trabajo) necesarios para determinar la correcta aplicación de la ventilación mecánica. Además, se implementó un nuevo algoritmo para el cálculo de la resistencia pulmonar basado en la equivalencia a los circuitos eléctricos. Los dos sistemas fueron probados en animales bajo diferentes condiciones fisiológicas.

Las mediciones del diferencial de presión de la vía aérea, del volumen corriente, de los picos de flujo máximo inspiratorios y espiratorios, y del volumen minuto presentaron un coeficiente de correlación de Pearson $r = 1$, y un coeficiente de error inferior al 0.5%. Los cálculos de la frecuencia respiratoria, de la distensibilidad pulmonar dinámica, de la resistencia pulmonar y del trabajo respiratorio presentaron un coeficiente de correlación de Pearson $r \geq 0.98$ y un coeficiente de error inferior al 5%.

Nuestro sistema de mecánica pulmonar fue capaz de monitorizar la función pulmonar de forma precisa. Además, la resistencia pulmonar fue calculada de forma fiable y precisa según el nuevo algoritmo.

1. Introducción

La ventilación mecánica es una de las terapias más comúnmente usadas en los servicios de urgencias y en las unidades de cuidados intensivos. Existen muchas estrategias diferentes de ventilación con presión positiva basadas en diversas combinaciones de ventilación ciclada por volumen o por presión con diferentes modalidades de flujo, volumen y presión. El soporte ventilatorio es de importancia fundamental en el manejo de los pacientes con fallo respiratorio severo. Los objetivos del soporte ventilatorio son dar apoyo al intercambio gaseoso pulmonar mientras los pulmones se recuperan del daño agudo, evitando la mortalidad asociada al soporte ventilatorio.

Datos globales ponen de manifiesto que hasta el 40% de los pacientes ingresados en una Unidad de Cuidados Intensivos necesitan ventilación mecánica, pudiendo permanecer durante más de 7 días con este soporte vital [1]. A pesar de que la ventilación mecánica es el

tratamiento más eficaz para la insuficiencia respiratoria aguda en la unidad de cuidados intensivos, los pacientes que reciben ventilación mecánica requieren un nivel de atención complejo, bien organizado y técnicamente sofisticado. En consecuencia, para los pacientes que reciben ventilación mecánica, es probable que exista una relación entre el nivel de hospitalización de la atención y el resultado [1].

La monitorización adecuada de la función pulmonar en pacientes con insuficiencia respiratoria aguda se ha convertido en un importante problema clínico. Esto, junto con las consideraciones de costos para los sistemas de atención de la salud, resulta en la presión para optimizar las terapias. Cada vez hay más pruebas de que la monitorización continua en tiempo real de la mecánica respiratoria en pacientes con insuficiencia respiratoria aguda resulta en estrategias ventilatorias más eficaces con mejores resultados [2]. Se ha demostrado la importancia de monitorizar la mecánica respiratoria para controlar la progresión de la enfermedad, optimizar la ventilación mecánica y evitar lesiones pulmonares iatrogénicas [3].

Las medición exacta del flujo, volumen y presión son esenciales en el manejo de un ventilador mecánico [4]. A partir de estas medidas, las propiedades fisiológicas básicas del sistema respiratorio (resistencia, distensibilidad y trabajo respiratorio) pueden ser calculadas. Estos parámetros proveen de importante información respecto del estado fisiopatológico del paciente. En general, se monitorizan y registran dos tipos de parámetros que definen el proceso de ventilación: 1) los parámetros ventilatorios o respiratorios tales como el volumen corriente, las presiones inspiratoria-espiratoria y los flujos y 2) los cálculos de mecánica pulmonar (distensibilidad, sobredistensión, resistencia, trabajo) que determinan la entrada y salida del fluido respiratorio en los pulmones. Monitorizando estos parámetros se consigue minimizar las complicaciones iatrogénicas debidas al uso de la ventilación mecánica, optimizar la interacción paciente-ventilador y determinar la disposición del paciente para su destete [4].

Con el fin de mejorar el manejo ventilatorio de los pacientes, nuestro objetivo fue desarrollar un sistema de evaluación pulmonar para calcular la mecánica pulmonar, comparando la exactitud de nuestro sistema con otros dispositivos, y capaz de representar gráficamente sus principales componentes.

2. Material y métodos

2.1. Animales

El estudio fue llevado a cabo en 40 ratas Wistar. Los animales fueron mantenidos según la normativa vigente (Real Decreto 1201/2005) con agua y comida ad libitum. El procedimiento experimental fue aprobado por el Comité Ético de Bienestar Animal del Centro. Una vez finalizados los experimentos, los animales fueron sacrificados mediante sobredosis de anestésico.

2.2. Anestesia y cirugía

La inducción anestésica fue realizada en todos los animales con ketamina y pentobarbital sódico. La anestesia se mantuvo con una infusión continua de esta última droga por vía intravenosa [5]. A continuación y con ayuda de un microscopio quirúrgico, la tráquea se canuló con un tubo endotraqueal de 2 mm. La arteria femoral fue canulada con un catéter para la extracción de muestras de sangre y registro de la tensión arterial.

2.3. Ventilación mecánica controlada

Los animales se conectaron a través del tubo endotraqueal, a un ventilador neonatal de flujo continuo, limitado por presión y ciclado por tiempo, iniciándose la ventilación mecánica controlada (VMC). Una vez iniciada, se administró una dosis intravascular de bromuro de pancuronio con el fin de prevenir movimientos respiratorios espontáneos y se registraron las señales escalares de flujo, presión y volumen.

2.4. Déficit de surfactante

Los animales fueron sometidos a lavados broncoalveolares repetidos para inducir un fallo respiratorio agudo (FRA) por déficit de surfactante [5]. Tras una hora del último lavado, se confirmó el fallo respiratorio y se registraron las señales escalares de flujo, presión y volumen.

2.5. Registro de señales escalares

Se utilizaron transductores de flujo y presión que recogían las señales escalares de flujo y presión de la vía aérea simultáneamente. El flujo se midió durante el ciclo respiratorio mediante un neumotacógrafo conectado en serie entre el ventilador y los animales. El neumotacógrafo posee una fina red de tubos paralelos, que oponen una resistencia constante al flujo de gas que lo atraviesa. Según el principio de Bernoulli, la presencia de una resistencia constante a un flujo, produce una caída de presión entre la entrada y la salida de ese tramo. Este diferencial de presión es proporcional al flujo que lo atraviesa. La presión de la vía aérea era medida por un transductor de presión diferencial, mediante un tubo de conexión a una puerta de presión situada entre el tubo endotraqueal y el neumotacógrafo.

2.6. Determinación de la mecánica pulmonar

Las señales escalares fueron procesadas para calcular los parámetros de mecánica pulmonar dinámica por el análisis lineal por mínimos cuadrados [6] y por un algoritmo mejorado [5] en 10 respiraciones por ensayo.

El análisis lineal por mínimos cuadrados permite la determinación simultánea de la frecuencia respiratoria (f_R), el diferencial de presión en la vía aérea (ΔP_{va}), el volumen corriente (V_T), la ventilación minuto (V'_E), los flujos máximos inspiratorios y espiratorios ($V'_{ins,max}$ y $V'_{esp,max}$, respectivamente), la resistencia del sistema respiratorio (R_{rs}), la distensibilidad pulmonar dinámica ($C_{L,din}$), el trabajo respiratorio (W_R) y la sobredistensión pulmonar ($C_{20}/C_{L,din}$).

Los valores de las señales escalares (presión, volumen y tiempo), y de las señales integradas (velocidad, flujo y aceleración) de las respiraciones de cada experimento, fueron incorporados al algoritmo en el que se implementaron las ecuaciones para el cálculo de las variables de la función pulmonar [5]. La resistencia del sistema respiratorio ($R_{rs,MW}$) fue calculada a diferentes niveles de volumen corriente usando el método de Mead y Whittenberger [7]. Además, aceptando la analogía del sistema respiratorio a un circuito eléctrico, en el que la resistencia eléctrica (R), la energía eléctrica ($w(t)$) y la corriente eléctrica ($i(t)$) son equivalentes a la resistencia del sistema respiratorio (R_{rs}), al trabajo respiratorio (W_R) y al flujo (V'), respectivamente, la resistencia del sistema respiratorio por analogía ($R_{rs,ele}$) se puede calcular como:

$$R_{rs,ele} = \frac{W_R}{\int_0^t [V']^2 dt}$$

2.7. Análisis estadístico

Todas las variables son representadas como la media \pm desviación estándar. La comparación de los parámetros pulmonares de f_R , ΔP_{va} , V_T , V'_E , $V'_{ins,max}$, $V'_{esp,max}$, $R_{rs,MW}$, $R_{rs,ele}$, $C_{L,din}$, W_R , $C_{20}/C_{L,din}$ obtenidos con el análisis lineal por mínimos cuadrados y con el algoritmo mejorado, fue realizada mediante regresión lineal simple. Para determinar el número necesario de estudios de mecánica pulmonar, se realizó un cálculo previo del tamaño muestral con una seguridad ($1-\alpha$) del 99,99% y un poder estadístico ($1-\beta$) del 99,99% para un coeficiente de correlación r de Pearson = 0,7071 ($R^2=0,5$) incluyendo un 10% de pérdidas, y se obtuvo un tamaño muestral de 72.

El porcentaje de error cometido, en función de los valores medidos por el análisis lineal por mínimos cuadrados, fue calculado según la razón [8]:

$$\%error = \frac{(valor\ medido - valor\ calculado) \times 100}{valor\ calculado}$$

donde el valor medido es el presentado por el análisis lineal por mínimos cuadrados, y el valor calculado es el hallado por el algoritmo mejorado.

Para el contraste de hipótesis y para la aceptación o rechazo de la hipótesis nula, se tomó una probabilidad de error tipo del 5%.

3. Resultados

En la figura 1 se representan gráficos de presión-volumen y flujo-volumen obtenidos de ambos sistemas de mecánica pulmonar.

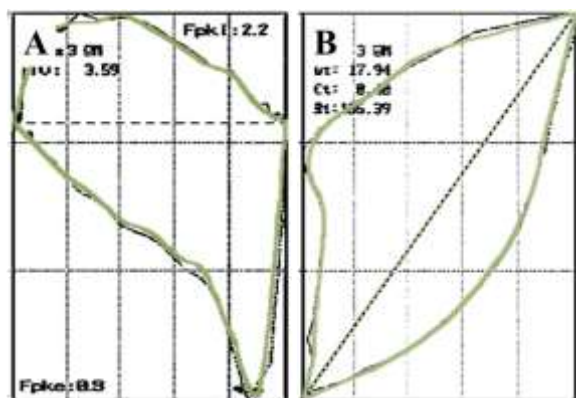


Figura 1. Gráficos de flujo-volumen (A) y presión-volumen (B) obtenidos por ambos sistemas a partir de las variables escalares del mismo animal en ventilación mecánica.

Parámetro calculado (unidades)	Análisis lineal por mínimos cuadrados	Algoritmo	Coef. r Pearson
f_R (ciclos/min)	29,5-34,7	29,4-34,7	0,997*
V'_E (mL•kg/min)	169-956	171-957	0,999*
$C_{L,din}$ (L/kPa)	2,8-20,1	2,8-18,3	0,995*
$R_{rs,MW}$ (kPa•s/L)	5,8-59,4	7,5-58,7	0,988*
W_R (mJ)	0,1-2,7	0,3-2,6	0,993*
$C_{20}/C_{L,din}$	0,5-5,5	0,6-5,7	0,867*

Tabla 1. Rango de valores de los parámetros de mecánica pulmonar calculados con los dos sistemas * $p < 0,0001$.

Parámetro (unidades)	Grupo	Análisis lineal por mínimos cuadrados	Algoritmo
ΔP_{va} (kPa)	VMC	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,1
	FRA	1,9 ± 0,1	1,9 ± 0,1
f_R (ciclos/min)	VMC	31,0 ± 1,1	31,0 ± 1,1
	FRA	31,3 ± 0,3	31,3 ± 0,2
V_T (mL/kg)	VMC	12,8 ± 3,5	12,8 ± 3,5
	FRA	10,5 ± 2,0	10,5 ± 2,0
V'_E (mL•kg/min)	VMC	399 ± 110	399 ± 110
	FRA	329 ± 61	329 ± 61
$V'_{ins,max}$ (L/min)	VMC	1,1 ± 0,4	1,1 ± 0,4
	FRA	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2
$V'_{esp,max}$ (L/min)	VMC	2,3 ± 0,4	2,3 ± 0,4
	FRA	3,3 ± 0,7	3,3 ± 0,7
$C_{L,din}$ (L/kPa)	VMC	13,1 ± 3,3	13,0 ± 3,0
	FRA	5,5 ± 0,9	5,6 ± 1,0
$R_{rs,MW}$ [7] (kPa•s/L)	VMC	16,2 ± 4,7	15,8 ± 4,6
	FRA	9,5 ± 3,3	10,9 ± 3,0
$R_{rs,ele}$ [5] (kPa•s/L)	VMC	16,2 ± 4,7	15,2 ± 4,3
	FRA	9,5 ± 3,3	9,4 ± 2,8
W_R (mJ)	VMC	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,2
	FRA	0,4 ± 0,2	0,5 ± 0,2
$C_{20}/C_{L,din}$	VMC	2,3 ± 0,7	2,6 ± 1,1
	FRA	1,5 ± 0,3	2,1 ± 0,5

Tabla 2. Parámetros de mecánica pulmonar determinados durante ventilación mecánica con los dos sistemas.

3.1. Comparación de los sistemas

El análisis de regresión de ΔP_{va} , V_T , $V'_{ins,max}$, y $V'_{esp,max}$ demostró un coeficiente de correlación r de Pearson de 1 ($p < 0,0001$), con unos rangos idénticos tanto para el sistema de análisis lineal por mínimos cuadrados como para el algoritmo mejorado (0,7-2,2 kPa, 5,1-27,6 mL/kg, 0,3-2,5 L/min y 1,3-5,2 L/min, respectivamente). Así mismo, el porcentaje de error fue $0,0 \pm 0,0\%$ en estas variables. Para el resto de parámetros calculados, los rangos de valores y sus respectivos coeficientes de correlación se incluyen en la tabla 1. Los porcentajes de error de los parámetros calculados de f_R , V'_E , $C_{L,din}$, $R_{rs,MW}$, W_R y $C_{20}/C_{L,din}$ fueron $0,1 \pm 0,2\%$, $0,0 \pm 0,4\%$, $0,6 \pm 3,4\%$, $-2,6 \pm 8,6\%$, $-3,4 \pm 4,7\%$ y $-12,7 \pm 14,5\%$, respectivamente.

3.2. Mecánica pulmonar en condiciones reales

Las mediciones de la mecánica pulmonar realizadas por ambos sistemas demostraron una gran similitud de los resultados cuando se compararon para el mismo grupo (tabla 2). Así mismo, los dos sistemas mostraron cambios similares de algunos parámetros pulmonares en los animales sin (VMC) y con fallo respiratorio (FRA).

4. Discusión

Los sistemas computarizados de monitorización pulmonar demuestran ser de gran utilidad clínica debido a su exactitud, fiabilidad y velocidad de cálculos [8]. Usando el análisis de regresión simple, hemos demostrado que los datos de la mecánica pulmonar obtenidos por nuestro sistema en comparación con los sistemas de monitorización estándar muestran un alto grado de correlación en casi todas las variables de cálculo con un bajo porcentaje de error (<5%). Sólo la estimación del índice de sobredistensión presenta un coeficiente de correlación de 0,867 con un error estimado de hasta el 13%. Esto se debió principalmente a las manipulaciones matemáticas para obtener este índice, incluyendo cálculos sucesivos que pueden acumular errores. El alto grado de correlación y las bajas tasas de error entre las señales y los parámetros medidos por el sistema de análisis lineal por mínimos cuadrados y el algoritmo validan nuestro sistema de mecánica pulmonar, al menos al nivel de otros dispositivos de uso clínico [9,10].

Es importante destacar que nuestro sistema demuestra una mayor versatilidad, ya que es capaz de medir la función pulmonar durante VMC. Además, se desarrolló un nuevo algoritmo basado en cambios continuos de flujo y presión, que: 1) es independiente de los cambios elásticos del pulmón; 2) requiere menos esfuerzo de cálculo que otros métodos; y 3) funciona correctamente con altas resistencias pulmonares.

Los estudios realizados para comparar la fiabilidad de los sistemas de mecánica pulmonar se han centrado en el campo de la ventilación neonatal [7,9,10], ya que la medición precisa del volumen, flujo y presión es crítica en estos pacientes. Asimismo, los resultados de la gestión de señales escalares como la presión, el flujo, el tiempo y el volumen han demostrado ser de gran valor clínico ya que ayudan a conocer la efectividad de la ventilación

mecánica o el daño inducido. A partir de estos datos fundamentales, se pueden derivar las propiedades fisiológicas de los sistemas respiratorios, proporcionando información importante para minimizar la lesión iatrogénica resultante del uso de la ventilación mecánica, optimizando las interacciones ventilador-paciente y determinando el momento de destete del ventilador [4].

Diferentes grupos han tratado de mejorar el rendimiento de los modelos de pulmón y las técnicas utilizadas para describir las características pulmonares o de los sistemas respiratorios en pacientes sanos y críticos [7,10,11]. Las mediciones en tiempo real se basan en un análisis de los cambios en la presión, el flujo y el volumen durante el ciclo respiratorio. Las mediciones dinámicas tienen la ventaja de no requerir patrones ventilatorios especiales o interrupción de la ventilación en pacientes de cuidados críticos, y pueden determinarse fácilmente mediante sistemas integrados en el propio respirador. Los sistemas integrados se han desarrollado para verificar y optimizar la función pulmonar durante el proceso de ventilación mecánica en pacientes con diferentes patologías pulmonares agudas [6,7] sin necesidad de desconexión.

Las resistencias inspiratorias y espiratorias se pueden medir por el método de Mead-Whittenberger [7]. Se ha descrito que en pacientes con resistencia pulmonar elevada, este método puede no funcionar tan bien [7]. El error inducido se debe a la falta de distinción entre la distensibilidad inspiratoria y espiratoria cuando la resistencia inspiratoria es menor que la espiratoria. Generalmente, en pacientes con fallo respiratorio con baja distensibilidad pulmonar, el error resultante es pequeño debido a que la presión necesaria para superar las fuerzas resistivas durante una respiración es pequeña comparada con la presión necesaria para superar las fuerzas elásticas. En la ventilación mecánica caracterizada por una alta resistencia al flujo, nuestro cálculo de la resistencia pulmonar ($R_{rs,ele}$), independiente del componente elástico, puede mejorar significativamente la medición de la resistencia pulmonar, con un menor esfuerzo computacional y buena precisión tanto en situaciones de altas resistencia pulmonar, como dentro del rango normal.

Antes del uso de los algoritmos computarizados en tiempo real, la medición y determinación del W_R era ardua y compleja. La carga resistiva externa impuesta por el respirador y el circuito de respiración ha sido un factor en gran medida olvidado [11]. El W_R desarrollado por un paciente crítico intubado durante la ventilación mecánica incluye tanto el trabajo fisiológico y como el impuesto [11]. Este último representa una sobrecarga resistiva al flujo que excede el W_T fisiológico normal, incluyendo el trabajo del paciente impuesto por el circuito respiratorio (tubos, respirador) y por el tubo endotraqueal.

En resumen, con este trabajo hemos validado nuestro algoritmo, capaz de determinar con precisión la mecánica pulmonar durante la ventilación mecánica. El sistema incluye algoritmos para calcular los parámetros más útiles de la mecánica pulmonar requeridos durante la ventilación mecánica en las unidades de cuidados intensivos. Como limitación importante, debemos señalar

que el índice de sobredistensión no demostró una alta correlación entre las variables medidas y calculadas para nuestro sistema en comparación con los sistemas actuales.

Agradecimientos

Trabajo financiado parcialmente por Eusko Jaurlaritz (IT773-13), Subdirección para la Evaluación y Promoción de la Investigación del Instituto de Salud Carlos III (PI1200852) y Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER): “Una manera de construir Europa”

Referencias

- [1] Amato MB, Meade MO, Slutsky AS, Brochard L, Costa EL, Schoenfeld DA, Stewart TE, Briel M, Talmor D, Mercat A, Richard JC, Carvalho CR, Brower RG. Driving pressure and survival in the acute respiratory distress syndrome. *New England Journal of Medicine*, vol. 372, 2015, pp. 747-55.
- [2] Marley RA, Simon K. Lung-protective ventilation. *Annual Review of Nursery Research*, vol. 35, 2017, pp. 37-53.
- [3] Loring SH, Malhotra A. Driving pressure and respiratory mechanics in ARDS. *New England Journal of Medicine*, vol 372, 2015, pp. 776-7.
- [4] Doorduyn J, Sinderby CA, Beck J, van der Hoeven JG, Heunks LM. Assisted ventilation in patients with acute respiratory distress syndrome: lung-distending pressure and patient-ventilator interaction. *Anesthesiology*, vol. 123, 2015; pp. 181-90.
- [5] Alvarez FJ, Gastiasoro E, Rey MC, Gomez MA, Publicover NG, Larrabe JL. Dynamic and quasi-static lung mechanics system for gas-assisted and liquid-assisted ventilation. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 56, 2009, pp 1938-48.
- [6] Corona TM, Aumann M. Ventilator waveform interpretation in mechanically ventilated small animals. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, vol 21, 2011, pp. 496-514.
- [7] Nikischin W, Gerhardt T, Everett R, Bancalari E. A new method to analyze lung compliance when pressure-volume relationship is nonlinear. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, vol. 158, 1998, pp. 1052-60.
- [8] Null DM, Suresh GK. Pulmonary function and graphics, en Assisted Ventilation of the Neonate, Goldsmith JP, Karotkin EH, Suresh G, and Keszler M, eds. 6th ed. Elsevier, 2017, pp. 108-17.
- [9] Larrabe JL, Alvarez FJ, Gastiasoro E, Valls A, Alfonso LF, Arnaiz A, Fernandez MB, Loureiro B, Publicover NG, Roman L, Casla JA, Gomez MA. Development of a time-cycled volume controlled pressure-limited respirator and lung mechanics system for total liquid ventilation. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 48, 2001, pp. 1134-44.
- [10] Schmalisch G. Basic principles of respiratory function monitoring in ventilated newborns: A review. *Paediatric Respiratory Review*, vol. 20, 2016, pp. 76-82
- [11] Oto J, Imanaka H, Nakataki E, Ono R, Nishimura M. Potential inadequacy of automatic tube compensation to decrease inspiratory work load after at least 48 hours of endotracheal tube use in the clinical setting. *Respiratory Care*, vol. 57; 2012; pp. 697-703.

Entrainment Model Based on Spatio-temporal Impulse Response and Restitution Properties

R. Caulier-Cisterna¹, S. Muñoz-Romero^{1,2}, A. García-Alberola³,
J. Almendral-Garrote⁴, J.L. Rojo-Álvarez^{1,2}

¹Department of Signal Theory and Communications and Telematics and Computation, Rey Juan Carlos University, Fuenlabrada, Madrid, Spain. ({raul.caulier, sergio.munoz, joseluis.rojo }@urjc.es).

²Center for Computational Simulation, Universidad Politécnica de Madrid, Spain.

³Arrhythmia Unit, Hospital General Universitario Virgen de la Arrixaca, El Palmar, Murcia, Spain. (arcadi@secardiologia.es).

⁴Electrophysiology Laboratory and Arrhythmia Unit, Hospital Monteprincipe, Grupo HM Hospitales, University CEU-San Pablo, Madrid, Spain. (almendral@secardiologia.es).

Resumen

The detailed reaction-diffusion models may be limited in realistic heart-size simulations, appropriately designed cellular automata (CA) can be useful in electrophysiological situations that do not require a detailed microscopic description. We introduce a signal-theory based description of the cell-to-cell impulse propagation, using a space-time impulse response description of the cardiac excitation, in order to extend a previously described CA based on the restitution of intracellular dynamics. In the present work, we show the usefulness of the proposed CA to generate some complex arrhythmia mechanisms and their response to diagnostic stimulation. First, the bipolar electrodes are used to record the simulated extracellular voltage in a normal impulse propagation situation, in order to check the realistic features of the EGM yielded by the model. Second, we created simulations of the entrainment of reentrant arrhythmia in response to programmed electrical stimulation, in order to visualize the shock of their waves, to observe their corresponding EGMs, and to analyze the results. The proposed CA can be a powerful tool for studying the behavior of cardiac arrhythmias.

1. Introduction

Cardioelectric activation models have been widely used for studying the underlying mechanisms of cardiac arrhythmia. Simplified tissue descriptions with cellular automata (CA) were first used [1], which were based on direct connections to the nearest neighbors and on some few possible states for each cell. This provided models with wave propagation, but they did not consider either the curvature effect or the propagation in a partially recovered medium, and more, spiral-waves related to fibrillatory reentrant circuits exhibited a non-physiological angular shape. The second generation of CA [2] modeled the curvature effects by considering squared cell-neighborhoods greater than one element, in such a way that a resting cell was excited when the number of excited cells in the neighborhood exceeded a threshold. The third generation of CA [3] introduced a computationally efficient weighting mask given by a finite-difference approximation to the diffusion operator.

Reaction-diffusion models (RDM) have also been extensively proposed to model the cardioelectric activation. Based on differential equation systems, RDM are capable of reproducing complex phenomena, such as the single myocardial-cell action potential, the impulse propagation through the tissue, or fibrillatory spiral waves [4]. The effect of microscopic variables (e.g., ionic concentrations or individual transmembrane currents) on the macroscopic media can be readily studied with RDM, whereas this is not possible for CA models. RDM can be difficult to use in applications such as realistic heart-size simulations, where the computational burden of RDM precludes their use [5], specially in the study of cardiac electrophysiological situations, which do not require a detailed microscopical description of the dynamics, for instance, some sustained rhythms and reentries [6]. CAs still can be extremely useful in these applications. However, in order to use CAs as a proper nexus between the microscopic and the macroscopic levels, cardioelectric activation properties should emerge naturally from the description and interactions of the model elements.

In a previous work [7], a CA model was proposed overcoming several of these limitations, which still required a noticeable computational burden. In this work, we make it lighter and affordable in some arrhythmia mechanisms and diagnostic therapy with increased complexity. Specifically, we propose to use a linear system theory based description of the cell-to-cell impulse propagation in CA models. This description allows to uncouple the intrinsic charge amount from the extrinsic conduction velocity, by means of a spatio-temporal impulse response used to model the propagation.

2. Methods

The proposed model consists of a 2-dimensional rectangular grid, representing a sheet of tissue, which is divided into elements or pieces accounting for cell groups. The size is

$X \times Y$ cm², and the lateral resolution is adjusted to by N elements/cm.

Element Reaction. According to the average state of the membrane channels, each element is described with 3 different states, namely, *rest* (R), *absolute refractory* (AR), and *relative refractory* (RR). Allowed transitions between states are due to depolarization (R to AR), partial repolarization (AR to RR), or total repolarization (RR to R) events. The time instants when transition events occur are calculated from two variables. First, the *Action Potential Duration* (APD), or time interval between a depolarization and its subsequent total repolarization. And second, the *Diastolic Interval* (DI), which is the time interval between a total repolarization and its subsequent depolarization.

The electric restitution curves (see [7]) stand for the behavior of present cycle APD, which is non-linear and increasing with DI at the preceding cycle. The restitution of the conduction velocity is not explicitly considered here. Hence, current APD is dynamically adapted according to previous DI in each element. The relative duration of AR and RR must be determined for each APD, so that $APD = AR + RR$ seconds. In our model, if F denotes the time fraction of APD in AR state, $0 < F < 1$, we have just:

$$AR = F \cdot APD, \quad RR = (1 - F) \cdot APD \quad (1)$$

Note that a state-based description does not provide us with physical levels of instantaneous transmembrane voltage, which should be very convenient for visualization. For this purpose, a single action potential is previously obtained by integration of the Luo-Rudy model [4], providing us with an AP prototype. During the model simulation, this prototype is normalized in time to the APD at each element, and then used as an interpolation look-up table for associating the time elapsed in the present state with the transmembrane voltage level.

Electrical Diffusion. The more neighbors of an element, the easier an element should be depolarized. This corresponds to an extrinsic excitability term to be considered for each element, which is directly related to the myocardial mass. Therefore, depolarization could be modeled as a threshold process, described by an excitation probability P_j^{hom} for each tissue element j in a homogeneous medium, and depending on the simultaneous consideration of intrinsic excitability, given by the conduction velocity (CV), and of the extrinsic excitability (Q), given by the (distance-weighted) number of depolarized neighbors. For model simplicity, we consider a reduction of the influence of a proximal stimulus with the squared distance. The excitability for this element is then

$$P_j^{hom} = K \cdot CV \cdot Q = K \cdot CV \cdot \sum_{i \in N_j} \frac{A_i}{d_{ij}^2} \quad (2)$$

where N_j denotes the defined neighborhood of element j ; A_i is the binary excitation state (1 excited, 0 elsewhere); and d_{ij} is the distance between i and j element centers. Normalization constant K is fixed in such a way that a flat

wavefront propagates at the maximum CV provided by the restitution curve, this is,

$$K = \frac{E[P_j^{hom}]}{CV \cdot E[Q]} \quad (3)$$

where E denotes the expectation operator, $E[P_j^{hom}] = p$ is *a priori* chosen, and it plays a key role to determine the integration time and the average excitation quantity $E[Q]$. Equation (2) represents a spatial impulse response, and it allows us to use signal processing tools, such as bi-dimensional Fourier transform, to optimize the calculation of the excitation. Moreover, this excitation can be weighted with time to give a spatio-temporal impulse response, hence supporting better the properties of the diffusion process.

For a flat wavefront with constant velocity V propagating longitudinally through a sheet of cardiac tissue with dimensions $L \times W$ cm, sampled at $M = 1/\Delta_s$ samples/cm (where Δ_s is the dimension of a single cell), a time interval T is needed, this is,

$$T = \frac{L \cdot M \cdot \Delta_s}{CV} \quad (4)$$

where T is related to integration time by $T = N \cdot \Delta_t$ with N an integer whole number. Then, the simulation step time can be calculated as

$$\Delta_t = \frac{L \cdot M}{N} \cdot \frac{\Delta_s}{CV} \quad (5)$$

therefore, the total number of excited cells in Δ_t is $L \cdot W \cdot M^2/N$. Moreover, for a flat wavefront and a neighborhood with $R = 1$, the maximum number of excited cells becomes $M \cdot W$, so that the average excitability probability p is then

$$p = \frac{L \cdot W \cdot M^2/N}{M \cdot W} = \frac{L \cdot M}{N} \quad (6)$$

Introducing this relationship in Eq. (5), it gives

$$\Delta_t = p \cdot \frac{\Delta_s}{CV} \quad (7)$$

where it is clearly shown the direct relationship between time step and p . The dependence between the value p and $E[Q]$ has still to be checked. Choosing $p = 1$, the wavefront covers Δ_s in Δ_t so the neighborhood for a single cell is up to three excited cells and then $E[Q] = Q_{max}/3$. For the case $p = 2$, the wavefront covers a column in twice Δ_t , and consequently, $E[Q]$ is expected to be bigger than the previous case, in fact, it can be shown that $E[Q] = Q_{max}/2$.

This expression can be easily extended to a heterogeneous substrate. If CV_l denotes the mean longitudinal conduction velocity along a fiber, and CV_t denotes the transversal conduction velocity among proximal fibers, then:

$$P_j^{het} = K \cdot \left(CV_l \sum_{i \in NL_j} \frac{A_i}{d_{ij}^2} + CV_t \sum_{i \in NT_j} \frac{A_i}{d_{ij}^2} \right) \quad (8)$$

where NL_j, NT_j are the subsets of neighbors along the longitudinal and transversal directions, respectively.

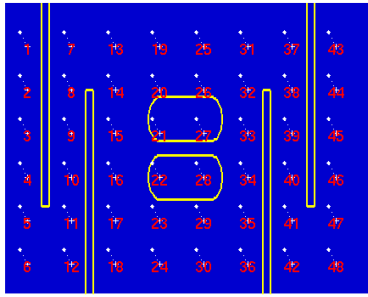


Figura 1. Simulated cardiac tissue. Corridors are generated with blocked regions, so that the impulse will follow the corridor path. An infarcted region in the middle of the tissue protects a slow conduction way, in an eight-figure mechanism.

3. Results

In this section, we first present the results of a simulation with the proposed CA on a plane wavefront, and then, a specific application is built, namely, the entrainment used in electrophysiological studies to help the clinician to localize the arrhythmia anatomical origin. Our CA was previously used in [8] to provide with detailed simulations on the entrainment technique, and in this work we only present the technical details, and a different example.

3.1. Plane Wavefront

Tissue Model. Several tissue models can be used in the CA. From an electrophysiological point of view, a two-dimensional cardiac tissue model can be made, including slow conduction pathways, corridors, and infarcted regions. Corridors are used to extend the distance between the cardiac tissue and the pacing electrodes, without a need for creating extremely large tissue models. Moreover, unipolar and bipolar electrodes can be put in the desired position over the tissue, in order to record the extracellular potential and to visualize the EGMs. Figure 1 depicts a $2 \times 5\text{-cm}^2$ cardiac tissue model with 48 bipolar electrode pairs. The slow conduction pathway in the middle of the infarcted regions is given a CV 50% slower.

EGM Catchment Model. Both unipolar and bipolar electrodes are placed on the cardiac tissue at a vertical distance, which is adjusted to provide with EGMs with similar shape to the observed in the electrophysiological studies (in this simulation, 0,1 cm). Figure 2 shows the recording of bipolar electrode configuration along a cardiac tissue centered line. Panels in the middle row shows the recorded EGM and the action potentials below these electrodes.

Simulation Visualization. The results of the CA simulations can be readily seen on a video generated by post-processing of the data stored in Matlab[®]. These data are also used for subsequent analysis, such as activation time maps generation of RR-peak detection.

3.2. Application to Entrainment

Thanks to the usefulness and user-friendly design of the CA, it can be used as research tool for a variety of pathologies, as well as a teaching tool. We show next an appli-

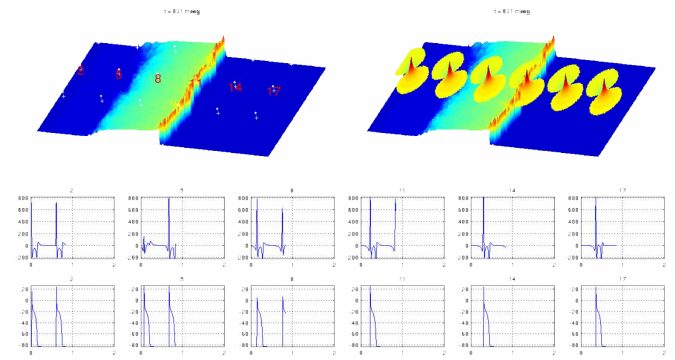


Figura 2. EGM recording in the central electrodes of the simulated cardiac tissue. The scope of bipolar electrodes can be seen in yellow, with their corresponding EGMs and the action potential below them.

cation to the modeling of entrainment in reentrant circuits.

Under normal conditions, the electric impulse is generated in the sinus node and it drives the activation of atria and ventricles. However, in some cases, the electrical activation can persist without extinguishing in a cardiac region, over some time enough to its neighbor tissue can recover its excitability (and hence overcome the refractory period), so that the same impulse is able to excite again (totally or partially) the heart again. This is called reentrant stimulus, and it is the mechanism for cardiac reentry. The path followed by the driving impulse until exciting again the tissue previously recovered is called reentry circuit.

In the electrophysiological studies, arrhythmia are often treated, and controlled stimulation techniques are often used, such as the entrainment techniques. These last consist of the acceleration of a tachycardia up to the same cardiac frequency in which a stimulus train is applied, due to the continuous reentry with each paced stimulus of the train [9]. In the case of reentry-originated tachycardia, each stimulus in the train enters the circuit and it propagates in two directions, namely, the antidromic front shocks with the wavefront around the circuit, whereas the ortodromic front advances the next beat of the tachycardia. When the over-stimulation is stopped, the tachycardia must continue without relevant changes in its morphology and cycle length, to consider that entrainment has been produced.

Figure 3 shows the results for an example of entrainment simulated with the CA. In a $3 \times 3\text{-cm}^2$ tissue with an eight-figure in the center, up to 45 bipolar electrodes are placed at 0,1 mm height. An impulse was delivered in this tissue which generated a reentrant circuit at 540-ms cycle-length, as seen in the EGMs of the figure. Then, from a point in the lower side of the cardiac tissue, an impulse was generated at 480-ms cycle-length to capture the reentering circuit, panel (a). In panel (b), the isochronal map is depicted, showing the collision of the antidromic front with the reentrant circuit front, whereas the antidromic front is advanced to the next tachycardia beat, hence capturing the reentering circuit. When the over-stimulation stops, the tachycardia continues without changing its morphology or cycle length, as seen in panel (d). Therefore, the simulation has generated an entrainment in a reentering circuit.

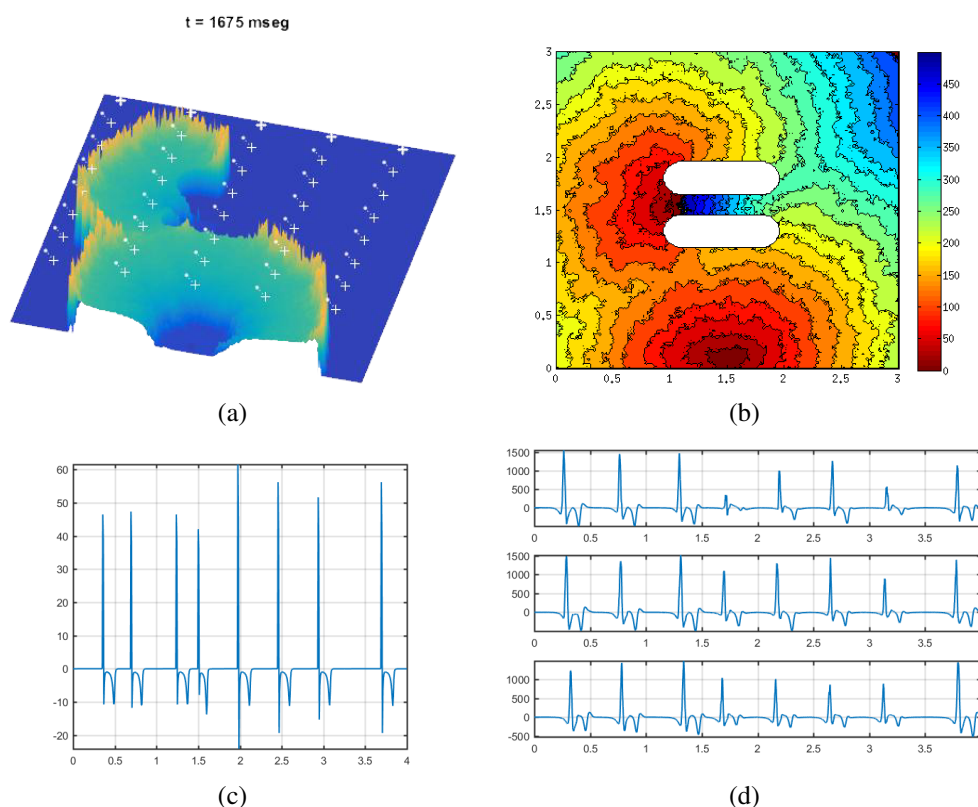


Figura 3. Results on entrainment modeling: (a) Video generated with the proposed CA. (b) Corresponding isochronal map for entrainment; (c) Reference EGM for the isochronal map; (d) EGMs of bipolar electrodes catchment.

4. Conclusion

In the present work, we have supported the use of CA in the investigation of the cardiac arrhythmias that are studied in electrophysiology. It is important to know the behavior of these arrhythmias and how to locate them within the heart in a fast and accurate way, thus making the electrophysiological studies shorter in time and improving the precision in the detection for the ablation of these arrhythmias. Using these CAs allows more accurate knowledge of the behavior of the arrhythmias, allowing their effective localization and control in controlled stimulation studies, as it was the case study performed in this work.

Acknowledgments

This work was partially supported by Research Grants PRINCIPIAS, FINALE, and KERMES (TEC2013-48439-C4-1-R, TEC2016-75161-C2-1-R, and TEC2016-81900-REDT) from Spanish Government.

Referencias

- [1] G. K. Moe, W. C. Rheinboldt, and J. A. Abildskov, "A computer model of atrial fibrillation," *American Journal of Heart*, vol. 67, pp. 200–20, Feb. 1964.
- [2] M. Gerhardt, H. Schuster, and J. J. Tyson, "A cellular automaton model of excitable media including curvature and dispersion," *Science*, vol. 247, pp. 1563–1566, March 1990.
- [3] J. R. Weimar, J. J. Tyson, and L. T. Watson, "Diffusion

and wave propagation in cellular automaton models of excitable media," *Physica D: Nonlinear Phenomena*, vol. 55, no. 3-4, pp. 309–327, 1992.

- [4] Y. Rudy and W. L. Quin, "A model study of the effects of the discrete cellular structure on electrical propagation in cardiac tissue.," *Circulation Research*, vol. 61, no. 6, pp. 815–823, 1987.
- [5] F. B. Sachse, *Computational Cardiology: Modeling Of Anatomy, Electrophysiology, And Mechanics*. Springer-Verlag, New York Inc, 2004.
- [6] P. Hammer, D. Brooks, and J. Triedman, "Entrainment response in a model of reentrant tachycardia," in *Computers in Cardiology 2001*, pp. 229–232, IEEE, 2001.
- [7] F. A. Atienza, J. R. Carrión, A. G. Alberola, J. L. R. Álvarez, J. J. S. Muñoz, J. M. Sánchez, and M. V. Chávarri, "A probabilistic model of cardiac electrical activity based on a cellular automata system," *Revista Española de Cardiología (English Edition)*, vol. 58, no. 1, pp. 41–47, 2005.
- [8] J. Almendral, R. Caulier-Cisterna, and J. L. Rojo-Álvarez, "Resetting and entrainment of reentrant arrhythmias: part i: concepts, recognition, and protocol for evaluation: surface eeg versus intracardiac recordings," *Pacing and Clinical Electrophysiology*, vol. 36, no. 4, pp. 508–532, 2013.
- [9] B. Waldecker, J. Coromilas, A. E. Saltman, S. M. Dillon, and A. L. Wit, "Overdrive stimulation of functional reentrant circuits causing ventricular tachycardia in the infarcted canine heart. resetting and entrainment.," *Circulation*, vol. 87, no. 4, pp. 1286–1305, 1993.

Biomateriales I

Miércoles, 29 de Noviembre

Polímeros biodegradables con moléculas biológicamente activas para la prevención de infecciones en dispositivos biomédicos

E. Sanchez-Rexach, E. Meaurio, J.R. Sarasua

Departamento de Ingeniería Minera y Metalúrgica y Ciencia de los Materiales, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Bilbao, España, evagloria.sanchez@ehu.es

Resumen

Casi la mitad de las infecciones nosocomiales (aquellas contraídas durante la hospitalización) están asociadas a la utilización de dispositivos biomédicos. Son infecciones difíciles de tratar y muchas de ellas, implican la extracción del dispositivo. Un factor esencial es la formación de biofilm alrededor del implante, ya que constituye una fuerte barrera bacteriana frente a los antibióticos. Para prevenir las infecciones en este tipo de dispositivos, se han usado dos estrategias: la biofuncionalización superficial del implante con un péptido antifouling que evite la adhesión de las bacterias que forman el biofilm, y la formación de dispersiones sólidas amorfas (ASDs) constituidas por mezclas polímero-fármaco miscibles y con fuertes interacciones intermoleculares, para una liberación controlada del fármaco durante la etapa de curación. El uso de polímeros biodegradables, permite que el implante pueda ser absorbido por el cuerpo tras finalizar su función.

1. Introducción

Los materiales poliméricos han ido desplazando paulatinamente a materiales tan tradicionales como los metales o los cerámicos en el campo de la medicina. El uso de biopolímeros supone un gran avance, ya que, además de ser materiales preparados para actuar con sistemas biológicos, poseen una gran versatilidad en cuanto a propiedades mecánicas y de biodegradación.[1] Combinando estos materiales con moléculas biológicamente activas, se pueden fabricar dispositivos biomédicos capaces de prevenir infecciones, con la ventaja de que pueden degradarse dentro del cuerpo después de cumplir con su cometido, lo que supone una mejora en la calidad de vida de los pacientes.

La principal causa de infecciones en dispositivos biomédicos es la formación de biofilm, que consiste en una red bacteriana muy resistente a los antibióticos.[2] En estos casos, la bacteria responsable de la infección crece adherida sobre la superficie del implante formando comunidades de bacterias, y una vez que el biofilm se ha establecido, los tratamientos antibióticos resultan poco efectivos, porque las bacterias se hayan protegidas dentro del biofilm. Dado que las bacterias del biofilm pueden ser hasta 1.000 veces más resistentes a los antibióticos, la mayoría de las veces se hace necesario sustituir el implante. Es especialmente importante evitar la formación de biofilm en implantes ortopédicos, porque una infección en estos casos, supondría una segunda cirugía para extraer la prótesis.

Por otro lado, la liberación controlada de fármacos implica conseguir la cantidad correcta, en el momento

adecuado y en lugar preciso. Con la mayoría de los sistemas convencionales para la administración de un fármaco, el nivel de dicha sustancia en el organismo alcanza un valor máximo y después cae hasta un mínimo, siendo necesaria la aplicación de una nueva dosis. Además, si el máximo o el mínimo de concentración del fármaco en el medio se sitúan por encima del nivel de toxicidad o por debajo del nivel mínimo efectivo, se pueden producir de forma alternante períodos de toxicidad y de ineficacia. Esta situación es particularmente problemática si ambos niveles (toxicidad y efectividad) están muy próximos. En este punto, los sistemas poliméricos presentan la ventaja de que son capaces de mantener la concentración del fármaco entre esos dos niveles a partir de una única dosis, así como de liberarla de una forma continua en un tiempo determinado.

En medicina, existen múltiples ejemplos de dispositivos poliméricos liberadores de fármacos. Por ejemplo, el poli(metil metacrilato) (PMMA) se usa como cemento para la fijación de prótesis y puede ir cargado con antibióticos como la tobramicina o el sulfato de gentamicina, con el fin de prevenir la osteomielitis.[3] Del mismo modo, polímeros biodegradables como la poli- ϵ -caprolactona (PCL), las polilactidas (PLA) o copolímeros lactida-glicolida (PLGA) son habituales en la fabricación de stents.[4] Un *stent* es un dispositivo con forma de tubo que se inserta en un conducto obstruido (coronario, urinario, etc.), para desbloquearlo y mantenerlo abierto. Los primeros stents metálicos suponían una solución a corto plazo, ya que la presencia de un material extraño provoca la agregación plaquetaria que da lugar a una nueva obstrucción, conocida como "restenosis". Los stents coronarios liberadores de fármacos han conseguido reducir hasta en un 70 % los casos de restenosis.[5]

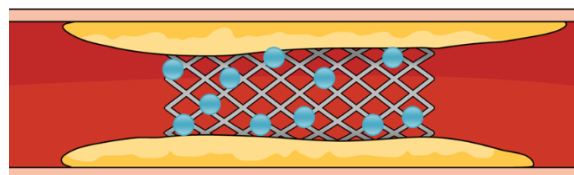


Figura 1. Stent liberador de fármaco

En este trabajo se han usado dos vías para combatir las infecciones: la liberación controlada de fármacos desde los dispositivos, y la creación de superficies antifouling que evite la formación de biofilm en los mismos. El material que se ha elegido como candidato para la fabricación de dispositivos biomédicos, ha sido el polímero biodegradable PCL. Por una parte, se han formado mezclas miscibles con el antibiótico cloranfenicol (CAM) para su liberación de forma controlada desde la matriz polimérica y por otra, se ha recubierto el biopolímero con un tripéptido sintético con carácter antifouling capaz de interferir con la primera etapa de la formación del biofilm.

2. Sistemas poliméricos para la liberación controlada de fármacos: estudio de miscibilidad, interacciones, cinéticas de liberación y actividad antibacteriana

La efectividad de un dispositivo liberador de fármaco depende de la forma en la que el fármaco es liberado, determinada por la interacción con la matriz polimérica. Un sistema ideal presenta una liberación brusca inicial que responda al elevado riesgo de infección durante la intervención, seguido de una liberación sostenida dentro del intervalo terapéutico deseado para prevenir las infecciones microbianas en el implante durante la fase de curación. Este mecanismo de liberación se da en los sistemas polímero-fármaco.

Las dispersiones sólidas amorfas (ASDs) buscan dispersar los fármacos en estado amorfo dentro de la matriz polimérica, ya que un fármaco en estado amorfo presenta una solubilidad y por tanto una biodisponibilidad mucho mayores que en estado cristalino.[6] Las ASDs más estables son aquellas en las que la mezcla polímero-fármaco es miscible y presenta fuertes interacciones intermoleculares. En este tipo de sistemas se puede llegar a suprimir totalmente la cristalización del fármaco, debido a que las interacciones específicas entre las cadenas poliméricas y los grupos funcionales del fármaco, reducen la movilidad molecular y a su vez, la recristalización.

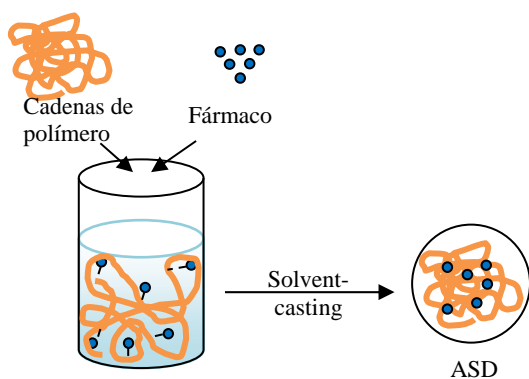


Figura 2. Formación vía solvent-casting de las dispersiones sólidas amorfas (ASDs)

2.1. Mezclas de PCL con el antibiótico cloranfenicol

La PCL es un polímero semicristalino ampliamente usado en la producción de dispositivos biomédicos, cuya degradación puede durar desde varios meses hasta años dependiendo del peso molecular, cristalinidad y condiciones de degradación, haciéndolo adecuado para aplicaciones biomédicas a largo plazo, como implantes. Por otra parte, el cloranfenicol (CAM) es un antibiótico de amplio espectro capaz de tratar efectivamente infecciones causadas por bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, y *Escherichia coli*;^[7] sin embargo, es un fármaco poco hidrosoluble y administrado por vía oral, puede permanecer sin disolver en el tracto gastrointestinal, de manera que no es absorbido por el organismo y termina siendo excretado.

La miscibilidad del sistema PCL/CAM se analizó por calorimetría diferencial de barrido (DSC), atendiendo al criterio de una temperatura de transición vítrea (T_g) única e intermedia a las de los componentes puros, y a través de la morfología esferulítica por AFM, para determinar qué composiciones forman las dispersiones sólidas amorfas más estables. Se encontró que, en sistemas miscibles, la movilidad de las cadenas poliméricas durante el proceso de cristalización se ve reducida debido a las interacciones moleculares con el fármaco. En el caso de la mezcla PCL/CAM, la estructura hexagonal de las esferulitas de la PCL se ve deformada por las interacciones específicas que se dan entre los grupos carbonilo del polímero y los grupos hidroxilo del fármaco ($-C=O \cdots H-O-$).

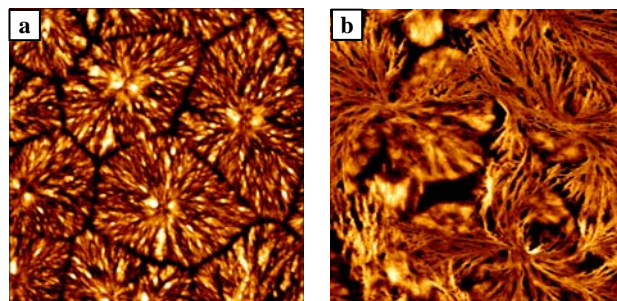


Figura 3. Imagen topográfica de AFM: a) esferulitas de PCL, y b) PCL/CAM 50/50 donde los límites de las esferulitas de la PCL se ven distorsionados por las interacciones específicas con el cloranfenicol

La cinética de liberación fue estudiada midiendo la concentración de fármaco liberado a determinados intervalos de tiempo, desde filmes de PCL/CAM inmersos en una solución buffer a 37 °C que simula el plasma humano, mediante espectroscopía UV-Vis. En el sistema PCL/CAM 95/5, donde todo el antibiótico se encuentra en estado amorfo debido a las fuerzas intermoleculares establecidas entre ambas especies, un 40 % del fármaco se libera en los primeros 10 minutos, seguido de una liberación constante. La solución penetra en la matriz polimérica provocando su hinchamiento; ésta se ensancha, y el cloranfenicol es liberado por difusión. Este mecanismo responde a un sistema ideal de liberación de fármacos para dispositivos biomédicos, ya que la

liberación brusca inicial sirve para hacer frente al riesgo de infección durante la implantación, y la posterior liberación constante a una concentración terapéutica efectiva, para contrarrestar una posible infección latente.[8]

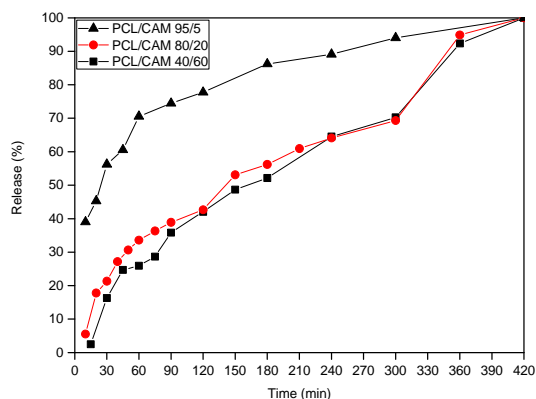


Figura 4. Perfil de liberación para muestras de PCL/CAM obtenidas por solvent-casting de 1 cm² y 100 μm de espesor, inmersas en 100 ml de PBS a 37°C durante 7 h

La actividad antibacteriana del sistema polímero-fármaco, se estudió mediante el método de difusión en agar. En primer lugar, se sumergieron muestras del sistema PCL/CAM 50/50 en solución buffer a 37 °C durante 24 horas, para asegurar la liberación de todo el antibiótico. Posteriormente, se vertieron gotas del líquido resultante de la liberación sobre placas de agar en las que previamente se había inoculado una capa de la bacteria *Escherichia Coli*, bacteria frecuente en infecciones del tracto urinario asociadas al cateterismo. Finalmente, se compararon las zonas de inhibición generadas con los controles negativo (líquido resultante de sumergir muestras de PCL en PBS) y positivo (disolución de cloranfenicol de 1 mg/ml).[9]



Figura 5. Inhibición bacteriana en agar: a) control negativo – PBS en el que ha estado PCL; b) control positivo – disolución de 1 mg/ml de cloranfenicol; y c) PBS con el antibiótico liberado de la muestra PCL/CAM 50/50 con una concentración de CAM de 0,7 mg/ml

Los resultados confirmaron que la miscibilidad aumenta la concentración de antibiótico amorfo, y aumenta por tanto su biodisponibilidad y poder bactericida.

3. Biopolímeros con propiedades antifouling: PCL modificado con un tripéptido sintético biocompatible que interfiere en la formación de biofilm

El biofouling se define como la acumulación de microorganismos indeseables, como bacterias, hongos, diatomeas, algas, plantas o animales, que se adhieren a las superficies. En el caso de bacterias, este proceso deriva en la formación de una red bacteriana llamada biofilm resistente a los antibióticos. La formación de biofilm en dispositivos biomédicos puede generar graves infecciones, especialmente frecuentes durante la estancia hospitalaria. Los materiales antifouling alteran las propiedades de las superficies, para prevenir la acumulación de microorganismos sobre los sustratos.

En este trabajo se empleó un tripéptido biocompatible con carácter antifouling, el cual, cuenta en su estructura con un grupo DOPA (principal componente del pegamento natural que usan los moluscos para agarrarse a las rocas) que le dota de la capacidad de adherirse espontáneamente a las superficies en medio básico, y que cuenta también con grupos fluorados que le proporcionan la cualidad antiadherente. De esta forma, las superficies recubiertas con este péptido sintético son capaces de hacer frente al perjudicial proceso de biofouling.[10]

Con el objetivo de investigar la actividad antifouling de superficies de PCL recubiertas con péptido, se sumergieron durante 2 horas muestras del polímero obtenidas por casting en disoluciones de 2 mg/ml de péptido en medio básico.



Figura 6. Imagen de TEM correspondiente a un filme de PCL modificado superficialmente con el péptido antifouling

Las superficies, tanto de PCL (control) como las de PCL modificadas con péptido, fueron incubadas durante una noche a 37 °C en un medio de cultivo (TSB) que contenía 10⁷ CFU/ml de *E. coli*. Posteriormente, las colonias formadas durante la incubación fueron arrastradas de las superficies y cultivadas sobre placas agar durante 15 horas a 37 °C. Como último paso, se procedió al recuento

de las colonias formadas, para poder comparar el número de colonias adheridas a las superficies de PCL con las que se habían pegado a las de PCL recubiertas con péptido.

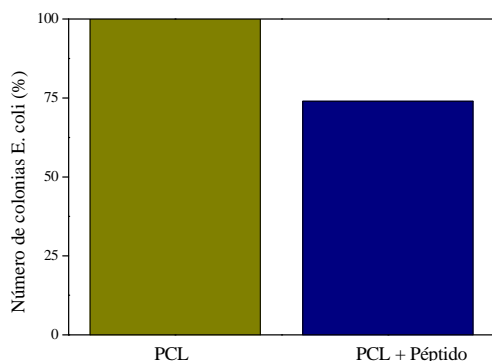


Figura 7. Comparativa de colonias de *E.coli* adheridas a las superficies de PCL recubiertas de péptido antifouling

Se observó una reducción en la formación de colonias de *E. coli* de un 26 %.

4. Conclusiones

En los últimos años, los dispositivos médicos han pasado de ser un mero soporte, a ser aparatos inteligentes que ayudan con el proceso de curación. La ingeniería biomédica se está enfocando en la fabricación de implantes bioactivos, es decir, con una funcionalidad adicional que ayude a la recuperación del paciente. En el caso de los dispositivos liberadores de fármacos biodegradables, el reto está en diseñar el perfil de liberación del fármaco, las propiedades mecánicas y la velocidad de degradación del dispositivo, para cada problemática. Hay que saber dónde, cuándo y cuánto fármaco es necesario en cada caso.

En este contexto, los materiales poliméricos ofrecen todo un mundo de posibilidades y permiten mejorar sustancialmente la eficacia de los medicamentos, dirigiéndolos hacia el objetivo y reduciendo los efectos secundarios que acarrearán una dosis excesiva.

La combinación de los polímeros biodegradables con moléculas biológicamente activas, tiene un gran potencial en cuanto a mejorar la efectividad de nuevos fármacos, y ese valor añadido que se le aporta a los dispositivos biomédicos es claramente interesante tanto clínicamente como comercialmente.

Agradecimientos

Los autores agradecen la ayuda económica del Ministerio de Economía y Competitividad, MINECO (MAT2016-78527-P) y a la EU iPROMEDAI COST Action TD1305.

Referencias

- [1] Fernández J, Etxeberria A, Sarasua JR. In vitro degradation studies and mechanical behavior of poly(ϵ -caprolactone-co- δ -valerolactone) and poly(ϵ -caprolactone-co-L-lactide) with random and semi-alternating chain microstructures. *European Polymer Journal*, 71, 2015, pp 585-595.
- [2] Hetrick EM, Schoenfisch MH. Reducing implant-related infections: active release strategies. *Chem. Soc. Rev.*, 35 (9), 2006, pp 780-789.
- [3] Baro M, Sanchez E, Delgado A, Perera A, Evora C. In vitro-in vivo characterization of gentamicin bone implants. *J. Controlled Release*, 83 (3), 2002, pp 353-64.
- [4] Sanchez-Rexach E, Meaurio E, Sarasua JR. Recent developments in drug eluting devices with tailored interfacial properties. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2017, <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2017.05.005>.
- [5] Kukreja N, Onuma Y, Serruys PW. Future directions of drug-eluting stents. *J. Interv. Cardiol.*, 22, 2009, pp 96-105.
- [6] Vasconcelos T, Sarmiento B, Costa P. Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. *Drug Discovery Today*, 12(23), 2007, pp 1068-1075.
- [7] Kalita S, Devi B, Kandimalla R, Sharma KK, Sharma A, Kalita K, Katakai AC, Kotoky J. Chloramphenicol encapsulated in poly- ϵ -caprolactone-pluronic composite: nanoparticles for treatment of MRSA-infected burn wounds. *International Journal of Nanomedicine*, 10, 2015, pp 2971-2984.
- [8] Teja SB, Patil SP, Shete G, Patel S, Bansal AK. Drug-excipient behavior in polymeric amorphous solid dispersions. *J. Excipients and Food Chem.*, 4 (3), 2013, pp 70-94.
- [9] Thomas MB, Metoki N, Geuli O, Sharabani-Yosef O, Zada T, Reches M, Mandler D, Eliaz N. Quickly Manufactured, Drug Eluting, Calcium Phosphate Composite Coating. *Chemistry Select*, 2, 2017, pp 753 - 758.
- [10] Maity S, Nir S, Zada T, Reches M. Self-assembly of a tripeptide into a functional coating that resists fouling. *Chem. Commun.*, 50, 2014, pp 11154-11157.

BIODEGRADABLE POLYESTER / CRYSTALLINE NANOCELLULOSE NANOCOMPOSITES FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS: PREPARATION AND CHARACTERIZATION.

A. Butron, O. Llorente, J. Fernandez, E. Meaurio, JR. Sarasua

Department of Mining-Metallurgy Engineering and Materials Science, POLYMAT, University of the Basque Country (UPV/EHU), School of Engineering, Alameda de Urquijo s/n, Bilbao, Spain, amaia.butron@eu.eus

ABSTRACT

The use of biodegradable polymers in biomedicine is rising and polymer matrices loaded with reinforcements can be good candidates for temporary implants and tissue engineering scaffolds. In this work poly (ethylene brassylate) (PEB) was reinforced with cellulose nanocrystals (CNC), in order to achieve a biocompatible material with superior mechanical properties than the neat polymer. PEB/CNC composites were characterized through calorimetry, thermogravimetry and tensile tests in order to determine the effect CNC reinforcement in the thermal and mechanical properties. The Young's modulus was found to increase about 20 % with just an addition of 2.5 wt% CNC; higher contents of reinforcement resulted in a decrease of ductility of the composites. The thermal analyses suggest lack of interaction between PEB and CNC at their interphase.

INTRODUCTION

Nanocelluloses are classified in three groups: (1) cellulose nanocrystals (CNC) or nanocrystalline cellulose, which has been used in this project; (2) cellulose nanofibrils (CNF), nanofibrillated cellulose (NFC) or cellulose nanofibers; and (3) bacterial cellulose (BC) or microbial cellulose [1]. The CNC is achieved by an acid hydrolysis process, disturbing the hydrogen bonds in the fine fibers of the pulp of cellulose and thus fragmenting the amorphous zones. Well defined crystalline rods are produced. The acid used in the treatment defines the colloidal stability of the nanoparticles, since each acid confers different functional groups [2]. The mechanical properties of the CNC depend to a great extent on the concentration of the acid used to carry out the hydrolysis reaction.

Crystalline nanocellulose is thermally stable, a critical property in composite melt production. However, the degradation temperature is reduced in the hydrolysis process in sulfuric acid: the cellulose decomposes at 330-340°C and the crystalline particles at 215-220°C [3].

The biological properties of nanocelluloses are essential if they are intended to be used in biological tissues, but there are few research works on this topic. The CNCs

prove to be biocompatible, with hardly any body rejection in vivo, but the human body is not capable of degrading them, which always implies some incompatibility. It would also be of interest to know its hemocompatibility and toxicity, both very scarcely studied, but with positive results so far. [1]

Poly (ethylene brassylate) (PEB) or poly (ethylene tridecanedioate) is a polyester with properties similar to poly (ϵ -caprolactone) (PCL), with a glass transition temperature (T_g) of -27 °C and a melting temperature (T_m) of 70 °C. The price of ethylene brassylate monomer is low, much more than that of PCL, which is already among the cheapest biodegradable polyesters [4] [5] [6].

The maximum thermal degradation of this polymer occurs at approximately 425 °C, starting at about 325 °C. The deformation at break is above 900%, its tensile strength is about 26 MPa, and its yield point is around 11 MPa [5] [6].

Compared with traditional composites, nanocomposites usually exhibit superior thermal, mechanical and barrier properties with lower reinforcing loads. A number of medical products based on biodegradable polymers has now reached the stage of clinical use. Biodegradable polyesters, in general, and especially polylactides and polylactones, are the most widely used biopolymers in medical applications [7]. Commercially important examples are Dexon™, used to produce sutures composed of poly (glycolic acid) (PGA), Lactomer™ surgical staples composed of PGA and poly (L-lactic acid) (PLLA), angioplasty plugs from PGA and poly (D,L lactic acid) (PDLLA), and many others [8].

The novelty of this work consists in the preparation and characterization of novel composites of PEB with CNC as reinforcement. The initial idea is to improve the overall mechanical properties of neat PEB since CNC are much more rigid and strong than the polymer. Besides, resulting biocompatible and biodegradable, these composites will be potentially of used as biomedical implants of for tissue engineering.

1. METHODS AND MATERIALS

1.1. MATERIALS

The PEB which has been used as the base material [10] was synthesized in our laboratory. Ethylene Brassylate monomer (purity > 95%) was supplied by Sigma Aldrich (W354309) and bismuth triphenyl catalyst (Ph3B) was obtained from Gelest; both were used for polymerization.

The nanocrystalline cellulose used in this project has a hydrodynamic diameter of approximately 150 nm, according to the data provided by Alberta Innovates Technology Futures. It is whitish and is presented as agglomerated flakes.

Chloroform as organic solvent, methanol to precipitate-purify the polymer and 1-Hexanol to control the molecular weight were also used.

1.2. COMPOSITE PREPARATION

Films of PEB/CNC composites were prepared with CNC compositions ranging from 0.5 to 50 wt% (see Table 1). PEB was dissolved in chloroform and the CNC were dispersed in the appropriate ratios and sonicated. To obtain films of uniform thickness, the cast film composites were compression molded in a Collin P 200 at 175 °C and 250 bar pressure for 15 seconds. Then, the molds were slowly cooled to 35 °C to ensure correct crystallization.

1.3. CHARACTERIZATION

1.3.1 DSC

Melt pressed films were analyzed by Differential Scanning Calorimetry (DSC) in a Q200 model from TA Instruments. Samples, weighing between 6 and 9 mg were cut from the films and encapsulated in aluminum pans.

Samples were first scanned from room temperature to 130 °C at a rate of 20 °C / min. Then they were quenched to -80 °C, cool down at the maximum speed allowed by the equipment, and finally a second heating scan was performed from -80 °C to 130 °C at 20 °C / min.

1.3.2 TENSILE TESTS

The mechanical properties of the composites were analyzed from tensile tests carried out on six specimens for each composition. These tests were carried out on an Instron model 5565. Specimens were cut in 8 x 1 cm sizes and the distance between fastenings was 5 cm.

1.3.3 THERMOGRAVIMETRY

To study the thermal degradation of the composites, a thermogravimetric analysis (TGA) was carried out in a TGA Q50-0545 from TA Instruments. The results are presented as mass loss curves and their corresponding derivative curves. Sample weights were in the 10 - 15 mg range and were put in ceramic crucibles that were heated from 25 to 700 °C at a rate of 5 °C / min.

2. RESULTS AND DISCUSSION

2.1. DSC analysis

Figure 1 shows the heat flow in the first scan of the curves of the composite samples containing 0, 2.5, 5, 10, 15, 20, 30, 40 and 50 wt% nanocellulose. The melting enthalpies were obtained from this Figure and were corrected to a pure polymer basis (see Table 1). As can be seen the corrected values for composites nearly matches the value obtained for pure PEB.

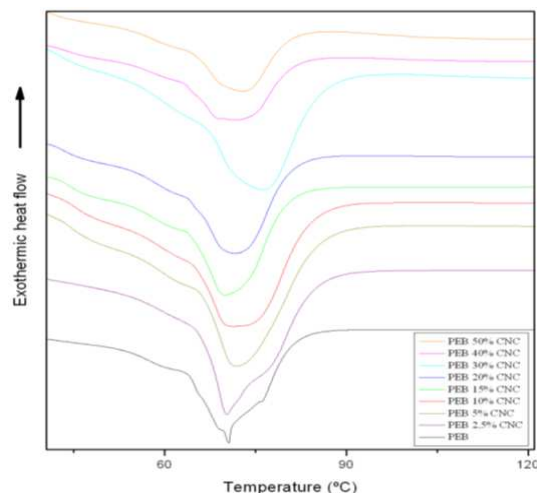


Figure 1. First DSC scans. Melting enthalpies (exothermic heat flow against temperature) for the investigated composites.

PEB/CNC Compositions	First scan		Second scan			
	T _m (°C)	ΔH _m (J/g)	T _g (°C)	ΔC _p (J/g)	T _m (°C)	ΔH _m (J/g)
PEB	70.6	89.3	-27.6	0.313	69.7	90.7
PEB/2.5% CNC	70.3	94.7	-31.1	0.309	69.9	94.4
PEB/ 5% CNC	71.6	89.5	-25.6	0.296	72.9	95.0
PEB/ 10% CNC	70.7	100.0	-28.5	0.259	72.5	92.5
PEB/ 15% CNC	69.6	89.8	-32.2	0.250	70.3	92.9
PEB/ 20% CNC	71.2	92.8	-29.2	0.243	70.9	94.8
PEB/ 30% CNC	76.7	92.9	-24.2	0.160	75.7	89.0
PEB/ 40% CNC	71,6	88,7	-30,6	0,158	72,1	92,0
PEB/ 50% CNC	74.3	91.8	-32.2	0.120	73.8	89.3

Table 1. Melting temperature, melting enthalpy, glass transition temperature and specific heat of the different concentrations of CNC

Table 1 shows the melting enthalpy (ΔH_m) and temperature (T_m) of neat PEB and its CNC composites obtained during the first heating scan. The glass transition temperatures (T_g) and its specific heats associated (ΔC_p) are also shown; these were obtained during the second heating scan.

From these data it can be seen that T_m remains approximately constant at 72 °C, ΔH_m reaches values in the range of 90 and 95 J/g and T_g is located at about -30 °C.

C. Regarding the specific heat (ΔC_p), its value decreases as expected with the addition of CNCs, its value being 0.313 J/g for pure PEB, and 0.120 J/g for the 50 wt% CNC composite.

2.2. TENSILE TESTS

Figure 2 shows the stress-strain curves obtained from the tensile tests for the different composites. As can be seen, composites with CNC compositions below 20 wt% show high ductility and can achieve break strain values of up to 700%. PEB composites with higher CNC contents than 30 wt. % CNC, however, hardly attain the yield point and therefore show brittle behavior.

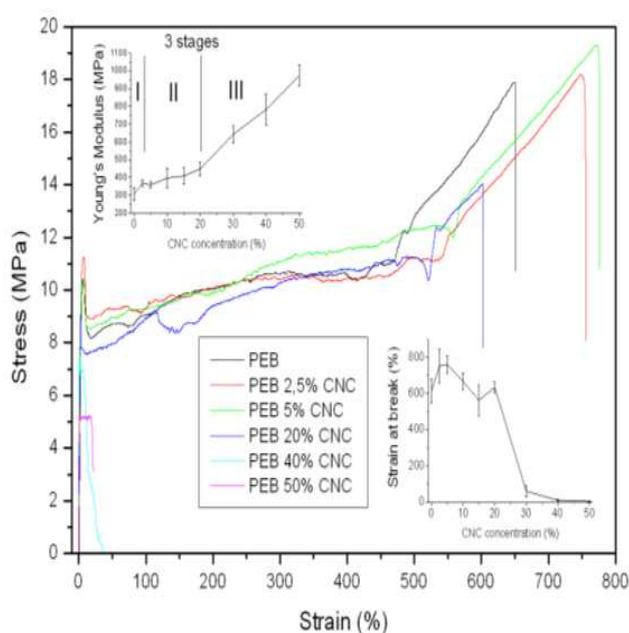


Figure 2. Nominal stress-strain curves for PEB/CNC composites

The mean values, and corresponding deviations, of the yield stress (σ_y) and strain (ϵ_y) and the elastic modulus or Young's modulus (E) are shown in the Table 2. The elastic modulus increases markedly, being almost 320% higher in the CNC 50 wt% composite with regard to neat PEB. The evolution of Young's modulus with CNC wt. % of these composites can be divided into three stages (Figure 2). In the first stage, corresponding to CNC contents below 2.5%, E grows abruptly, then in the second stage stabilizes to a value close to 400 MPa and finally, in the third stage, from 20 wt. % CNC another important increase occurs. The latter suggests interaction between cellulose nanocrystals within possible agglomerates.

PEB/CNC	σ_y (MPa)	ϵ_y (%)	E (MPa)
PEB	$10.7 \pm 0,3$	6.5	307 ± 37
PEB/2.5% CNC	$11.4 \pm 0,6$	7.4	368 ± 18
PEB/ 5% CNC	$10.2 \pm 0,5$	5.8	359 ± 16
PEB/ 10% CNC	$11.2 \pm 1,9$	5.2	397 ± 55
PEB/ 15% CNC	$9.3 \pm 0,6$	3.3	409 ± 46
PEB/ 20% CNC	$10.0 \pm 0,8$	3.2	449 ± 38
PEB/ 30% CNC	$9.8 \pm 0,5$	1.9	643 ± 47
PEB/ 40% CNC	$7.1 \pm 0,8$	1.0	784 ± 86
PEB/ 50% CNC	-	-	974 ± 59

Table 2. Mechanical properties of different concentrations of CNC copolymers

Figure 3 shows the stress-strain behavior of neat PEB and its CNC composites at low strains. A slope increase is clearly observed in the lineal region as CNC content added to PEB increases. In addition the yield stress increases and a significant reduction of yielding area is observed with adding CNC contents. Finally, the 50% CNC composite does not attain the yield point and therefore breaks in brittle mode in the linear region.

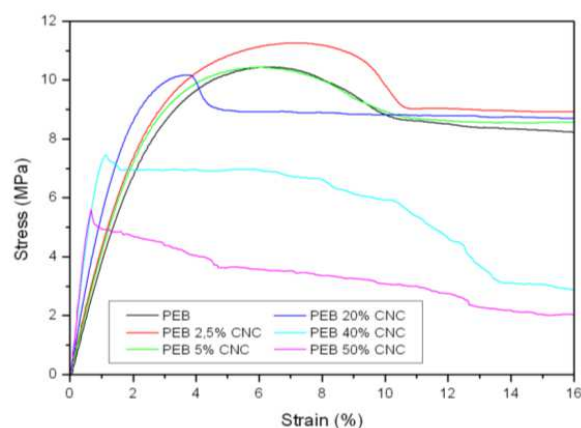


Figure 3. Creep stress and zone of elastic behavior of the different concentrations

2.3. TGA

Figure 4 shows the thermal degradation curves of the PEB composite samples containing 0, 10, 30, 50 and 100 wt% CNC. As can be seen, degradation begins at about 250 °C for all samples, except for PEB, which begins to degrade at 300 °C. Mass loss ends in all cases at about 500 °C save for neat CNC whose curve drops at lower temperature leaving a residue of the initial CNC mass. In this figure also two steep drops can be detected, which can be associated to two different stages of degradation, the former at lower temperature corresponding to CNC degradation and the latter at higher temperature corresponding to PEB. As expected, as the CNC content in composites increases, the first mass drop increases in intensity.

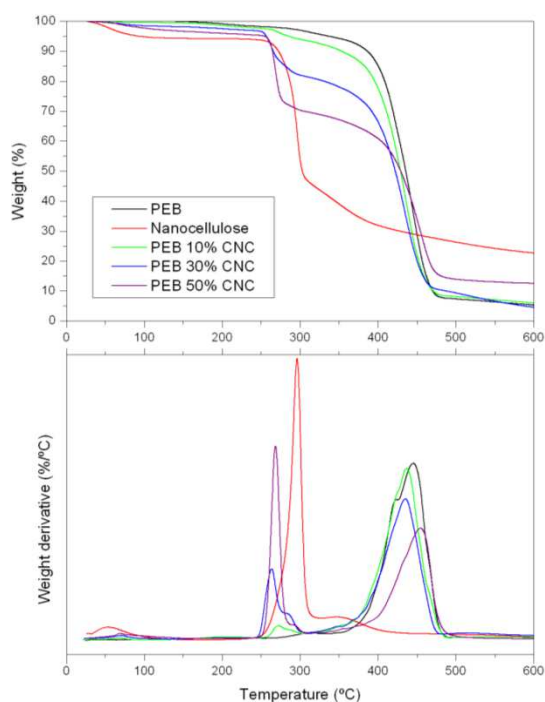


Figure 4. Weight loss and its derivative for 0, 10, 30, 50 and 100 CNC wt%.

Figure 4 shows also (below) the derivative curves. The CNC show its maximum degradation rate at 296 °C whereas that of PEB occurs at 445 °C. Overall the curves show the expected shapes according to composite materials composition. This additivity suggests the lack of interaction between PEB and CNC.

3. CONCLUSIONS

- CNC seem well dispersed in PEB since the good reproducibility of results obtained from different samples is consistent with homogeneous dispersions.
- Since both components of composites degrade as would do if they were isolated, the thermal degradation analysis suggests lack of interactions between CNC and PEB and therefore the existence of a pure physical mixture.
- Thermal properties of PEB are not significantly altered when CNC is added suggesting also lack of interaction at PEB-CNC interfaces.
- Increasing the CNC content in PEB composites, elastic modulus and the tensile strength increase. Particularly relevant is the composite containing 2.5 wt.% since Young's modulus shows the largest increase over PEB without losing ductility. This is therefore the optimal CNC content and reveals the possibility of using CNC composites as neat PEB alternatives with an increment of stiffness.
- At CNC contents higher than 20 wt% load, the modulus increases higher than expected, which suggests interactions between CNC forming agglomerates.
- The higher CNC content in composites the greater the brittleness. Particularly, ductility is highly reduced above

20 wt% CNC contents suggesting the existence of CNC agglomerates above this content.

- The degradation temperature in PEB/CNC composites is reduced to 250 °C; this reduction of thermal stability with regard to neat PEB should be considered during processing operations.

- PBC/CNC nanocomposites show a significant improvement of stiffness and strength related properties and therefore can be considered potential material candidates for bone tissue temporary implants.

Acknowledgments

The authors are thankful for funds from the Basque Government, Department of Education, Language Policy and Culture (IT-927-16) and the Spanish Ministry of Innovation and Competitiveness MINECO (MAT2016-78527-P)

4. BIBLIOGRAPHY

- [1] Lin N., Dufresne A. (2014). Nanocellulose in biomedicine: Current status and future prospect. *European Polymer Journal*, 59, 302-325.
- [2] Grishkewich, N., Mohammed N., Tang J., Chiu Tam K. (2017). Recent advances in the application of cellulose nanocrystals. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 29, 32-45.
- [3] Ioelovich, M. (2016). Nanocellulose- fabrication, structure, properties and application in the area of care and cure. En *Fabrication and Self- Assembly of Nanobiomaterials*. Rehovot, Israel: Elsevier.
- [4] Cama G., Mogosanu D., Houben A., Dubruel P. (2017). 3. Synthetic biodegradable medical polyesters: poly-ε-caprolactone. En *Science and Principles of Biodegradable and Bioresorbable Medical Polymers*. Krijgslaan, Ghent, Belgium: Elsevier.
- [5] Fernández, J., Montero, M., Etxeberria, A., Sarasua, J.R. (2017). Ethylene Brassylate: Searching for new comonomers that enhance the ductility and biodegradability of polylactides. *Polymer degradation and Stability*, 137, 23-34.
- [6] Fernández Hernández J., Amestoy H., Sardon H., Aguirre, M., Sarasua, J.R. (2016). Effect of molecular weight on the physical properties of poly(ethylene brassylate) homopolymers, 6, 22121-22136.
- [7] Li, S. (2016). 2. Synthetic biodegradable medical polyesters. En *Science and Principles of Biodegradable and Bioresorbable Medical Polymers*. Montpellier, France: Elsevier.
- [8] Bajpai, P. (2017). 8. Applications. En *Pulp and Paper Industry*. India: Elsevier.
- [9] Spinella S., Cedric S., Raquez S., McCallum S., Gross R., Dubois P. (2016). Green and Efficient Synthesis of Dispersible Cellulose Nanocrystals in Biobases Polyesters for Engineering Applications, 4 (5), 2517–2527
- [10] Fernandez J, Meaurio E, Chaos A, Sarasua JR. (2013). Synthesis and characterization of poly(L-lactide/ε-caprolactone) statistical copolymers with well resolved chain microstructures *Polymer*, 54, 2621-2631.

Propiedades mecánicas de nanocomposites de matriz Poli-lactida- ϵ -caprolactona reforzados con nanotubos de carbono funcionalizados con polivinilpirrolidona y polidopamina

H. Amestoy¹, H. Tungstal¹, E. Meaurio¹, J.R. Sarasua¹

¹ Dpto. de Ingeniería Minera y Metalúrgica y Ciencia de los Materiales, POLYMAT, Escuela de Ingeniería de Bilbao, Universidad del País Vasco (UPV/EHU)
hegoi.amestoy@ehu.es

Resumen

En este estudio se muestra el efecto de diferentes funcionalizaciones a nanotubos de carbono de pared múltiple (CNT) en las propiedades mecánicas de base Poli-lactida- ϵ -caprolactona (PLCL) para su utilización en aplicaciones médicas de regeneración de tejidos. La adición de polivinilpirrolidona (PVP) mejora la capacidad de dispersión de los nanotubos, actuando como tensoactivo para solventes tanto hidrófilos como hidrófobos, dando una mejora en las propiedades finales de estos biomateriales. La adición de la polidopamina sirve al uso de estos sistemas en aplicaciones biomédicas de liberación de fármacos además de dar las mejores propiedades mecánicas.

1. Motivación

El co-polímero Poli-lactida- ϵ -caprolactona (PLCL) utilizado en este trabajo tiene un gran interés para aplicaciones biomédicas por ser un (co) polímero elastómero termoplástico de relativamente rápida biodegradación [1]. En particular es muy indicado para implantes biodegradables de tejidos blandos. Pero las propiedades mecánicas del PLCL son bajas para algunas aplicaciones, lo que limita su uso. Los nanotubos de carbono han demostrado ser un refuerzo efectivo para polímeros y que pueden ser utilizados para aplicaciones como liberación de fármacos o para mejorar la bioactividad [2-3]. Esto depende de obtener una buena dispersión de los nanotubos en la matriz polimérica siendo este uno de los principales retos tecnológicos para estos composites PLCL/CNT. En este trabajo se investiga el uso de la polivinilpirrolidona (PVP) como agente tensoactivo sobre los CNT para que se mejore la dispersión de estos en la matriz PLCL. Por otra parte los recubrimientos de polidopamina han demostrado ser buenos candidatos para aplicaciones biomédicas, ya que los grupos funcionales pueden ser utilizados para depositar fármacos en la superficie [4].

En este estudio se prepararán nuevos biomateriales poliméricos compuestos de PLCL y CNTs y se estudiarán los efectos de las modificaciones superficiales de los CNT por PVP y de polidopamina (PDA) con objeto de una mejora de la dispersión y de las propiedades mecánicas finales de los sistemas estudiados.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

El biomaterial de base utilizado en este estudio es un co-polímero PLCL 7015 con una proporción molar de lactida/caprolactona de 70/30 suministrado por PURAC-CORBION (Países Bajos). Tiene un peso molecular promedio en número Mn de 70 KDa y un índice de polidispersidad de 2.1.

Los nanotubos de carbono de pared múltiple (CNT) fueron suministrados por ARKEMA (Francia). Tienen entre 15 y 50 nm de espesor sumando entre 5 y 15 paredes de carbono, además de una longitud de entre 0,5 y 1,5 μ m.

Para la funcionalización de los CNT se utilizó PVP suministrado por Sigma Aldrich (ID 2489931) de 10 KDa de peso molecular promedio en número. Para la funcionalización de los CNT se utilizó también la dopamina hidroclicada suministrada por Sigma Aldrich (ID 24277897).

2.2. Funcionalizaciones y obtención de composites

Para funcionalizar los nanotubos con PVP, se añadieron primero MWCNT en dimetilformamida (DMF) en una proporción de 200 ppm. Se sonicó durante 1 hora en un sonicador de baño Ultrasound H-D de 120W y 40KHz y posteriormente se añadió la PVP en una proporción de 1:16 (3,2g/ml). Se dejó 1h agitando magnéticamente y se volvió a sonicar durante otra hora. Finalmente se filtró la disolución con un filtro de nylon con poros de 0,2 μ m. Se secaron los nanotubos funcionalizados en un horno a vacío a 50°C durante 24h y a 150°C durante 1h.

Para la funcionalización con polydopamina se partió de los nanotubos ya funcionalizados con PVP (CNT-PVP). Se añadieron en una proporción de 200 ppm en una solución de pH 8,5 y se dispersaron 1h en el sonicador de baño. A continuación se añadió la dopamina hidroclicada en una proporción 4:1 (800ppm) y se sonicó de manera continua durante 6h, en las que polimerizo la polidopamina en la superficie de los nanotubos. Se filtró la disolución con un filtro de porosidad media de 0,2 μ m y

se lavó con agua destilada continuamente hasta que el residuo del filtro quedo claro. Por último se secaron los nanotubos funcionalizados con PDA en un horno a vacío a 50°C durante 24h y a 150°C durante 1h.

Una vez obtenido los nanotubos funcionalizados con polidopamina (CNT-PDA) se volvió a utilizar el procedimiento arriba decrito para depositar PVP por encima y asi mejorar la capacidad de dispersión obteniendo nanotubos con doble funcionalización (CNT-PDA-PVP).

Para obtener las composiciones del estudio se añadieron los nanotubos funcionalizados en una proporción de 200ppm en diclorometano. Se dispersaron utilizando un sonicador directo Hielscher UP400ST a 300w utilizando una celula de flujo continuo, alimentándola a 125ml/min durante 1h. Después se añadió el PLCL en la proporción necesaria para obtener las composiciones de 0,5 1 y 2% en peso de CNT. Se dejó evaporar la disolución en un molde de teflón a temperatura ambiente y el film obtenido se secó durante 48h en vacío y durante 30 min a 100°C en vacío también. Por último los films se procesaron en una prensa Collin P200E a 180°C y 240 bar utilizando un molde para obtener films de 300-350 µm de espesor.

La tabla 1 resume los 7 sistemas utilizados en el estudio con el porcentaje de refuerzo en peso y el tipo de funcionalización de los nanotubos. Las probetas de tracción se obtuvieron mediante troquelado con unas dimensiones de 55x10 mm y los ensayos se realizaron en una sala climatizada con una temperatura controlada de 21°C.

Denominación	% CNT.	PVP	POL
PLCL	0	NO	NO
05CNT-PVP	0.5	SI	NO
10CNT-PVP	1.0	SI	NO
20CNT-PVP	2.0	SI </td <td>NO</td>	NO
05CNT-PDA-PVP	0.5	SI	NO
10CNT-PDA-PVP	1.0	SI	NO
20CNT-PDA-PVP	2.0	SI	NO

Tabla 1. Resumen de los biomateriales utilizados en el estudio indicando las proporciones en peso de CNT y su funcionalización con PVP y PVP-PDA

2.3. Ensayos

Para comprobar las funcionalizaciones se utilizó la termogravimetría en una maquina TA Q50 de TA instruments utilizando pocillos de alúmina y muestras de entre 10 y 15mg. Se hizo un barrido de temperatura desde el ambiente a 500°C, incrementando en 10°C/min y en atmosfera de nitrógeno.

Las probetas de tracción se ensayaron en la INSTRON 5565K monitorizando la tensión y la deformación. De este ensayo se obtuvo le módulo de Young secante al 2%, por la poca linealidad del material, para calcular la rigidez del composite. Además se calculó la tensión alcanzada a una deformación del 20% y la tensión y deformación de rotura alcanzadas por las diferentes composiciones de biomaterial compuesto estudiadas. Se ensayaron 5 probetas por cada sistema.

En las propiedades mecánicas para calcular la significancia estadística de los valores obtenidos se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) con una confianza del 95%.

3. Resultados

3.1. Termogravimetría (TGA)

La Figura 1 muestra las curvas obtenidas por TGA para los CNT, la PVP, la PDA (Pol) y los CNT con las diferentes funcionalizaciones.

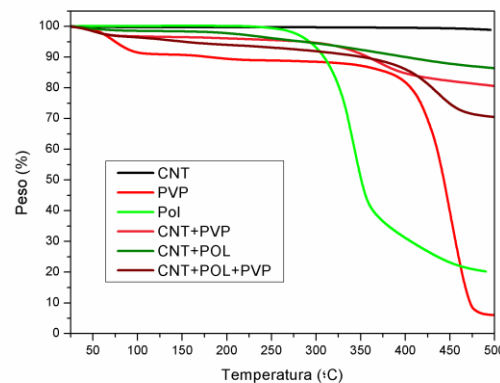


Figura 1. Porcentaje de peso perdido por los biomateriales estudiados.

En la Tabla 2 se muestra las perdida de masa de los diferentes refuerzos y polímeros para las temperatura de 100 y 500°C

Biomaterial	$\Delta W_{g100^{\circ}C}$ (%)	$\Delta W_{g500^{\circ}C}$ (%)
CNT	0.2	0.7
PVP	9.0	94.0
PDA	1.0	21.0
CNT+PVP	3.3	19.4
CNT+PDA	1.2	13.6
CNT+PDA+PVP	3.6	29.4

Tabla 2. Caída de peso durante el TGA para 100 y 500°C de los biomateriales estudiados.

Como se puede apreciar los nanotubos en atmosfera de nitrógeno pierden masa con la temperatura. El PVP muestra dos caídas, una baja temperatura que podemos ver sumando una caída de 9% a los 100°C y una segunda caída brusca, bajando hasta el 94% a los 500°C. La polidopamina es más estable y apenas baja en el primer tramo y mantiene un 21°C hasta los 500°C mostrando una caída más prolongada al final.

Cuando miramos los nanotubos cuando están funcionalizados están con PVP podemos ver que la caída no es muy grande (19,4%) por lo que la gran parte del PVP se fue con el disolvente y quedo una pequeña capa adherida a los nanotubos. Muestra además la caída inicial con 3% a los 100°C. Con la funcionalización con polidopamina pasa lo mismo pero solo mostrando prácticamente la segunda caída mas progresiva y de menor caída (13,6%). De esta manera podemos asegurar que hemos conseguido una unión química o física de nuestros nanotubos con los polímeros de funcionalización.

Por ultimo en los nanotubos funcionalizados primero con polidopamina y después con PVP podemos ver ambas caída y que la caída final es mayor, casi la suma de las caída correspondientes a ambas funcionalizaciones. De manera que también tenemos fuertes indicios de una unión entre el PVP y la capa de polidopamina.

3.2. Ensayos mecánicos

La Figura 2 muestra las curvas de tracción (σ)-deformación (ϵ) de los sistemas de PLCL y de sus composites de composición CNC en peso de 0.5, 1.0 y 2.0 % funcionalizados con PVP y con PVP-PDA. Podemos ver el comportamiento típico de un PCL con una subida corta al principio seguida de una zona mucho más plana de largo estiramiento donde las cadenas del polímero se están alineando. Por ultimo empieza una tercera fase cuando las cadenas están alineadas que aumenta de nuevo la rigidez del material.

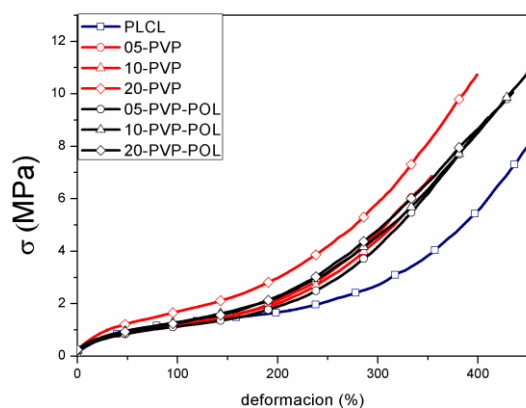


Figura 2. Curvas tracción-deformación de los biomateriales estudiados

	$E_{2\%}$ (MPa)	$\sigma_{20\%}$ (MPa)	σ_r (MPa)	ϵ_r (%)
PLCL	5.6 ± 1.3	0.55 ± 0.06	8.63 ± 4.98	513 ± 9
05CNT-PVP	8.7 ± 1.3	0.54 ± 0.01	10.68 ± 0.39	450 ± 14
10CNT-PVP	9.2 ± 0.9	0.58 ± 0.01	7.6 ± 1.30	383 ± 36
20CNT-PVP	12.2 ± 3.9	0.66 ± 0.06	10.58 ± 0.23	442 ± 14
05CNT-PDA-PVP	9.3 ± 2.0	0.55 ± 0.03	8.38 ± 1.49	388 ± 27
10CNT-PDA-PVP	9.9 ± 1.7	0.62 ± 0.03	10.88 ± 1.17	347 ± 26
20CNT-PDA-PVP	12.23 ± 1.7	0.74 ± 0.03	11.42 ± 0.32	386 ± 14

Como se puede comprobar la inclusión de los nanotubos de carbono aporta una mejora de las propiedades mecánicas, mejorando la resistencia del material y la rigidez. En la Tabla 3 tenemos el resumen de las principales propiedades evaluada como el módulo secante al 2% de deformación ($E_{2\%}$), la tensión al 20% de deformación ($\sigma_{20\%}$) y de la tensión y deformación a rotura (σ_r, ϵ_r).

Tabla 3. Propiedades mecánicas de los biomateriales estudiados.

Al ser unos materiales compuestos con una gran capacidad de alargamiento elástico lo más interesante es fijarnos en los rangos en los que es aplicable para biomedicina. La rigidez inicial mejora con la adición de nanotubos y es creciente con el porcentaje de nanotubos. La diferencias entre las diferentes funcionalizaciones por PVP y PVP-PDA no es significativa, lo que indica que en esta primera parte lo importante es solo la cantidad de refuerzo y su buena dispersión. Esto es debido principalmente a que en esta primera parte de deformación elástica las propiedades de las intercaras entre PLCL y CNC modificadas no juegan un papel importante en las propiedades mecánicas.

Pero pasado el primer tramo, superior al 2% de deformación la diferencia entre funcionalizaciones se hace patente. Fijándonos en la tensión al 20% de deformación las diferencias son claras y estadísticamente significativas para la funcionalización con polidopamina, que muestra ser la más efectiva. En la Figura 3 tenemos la mejora aportada en resistencia en porcentaje según cantidad de refuerzo. Aquí se aprecia mucho mejor el gran resultado obtenido (mejora del 35% con solo un 2% de CNTs funcionalizados adicionados con polidopamina.

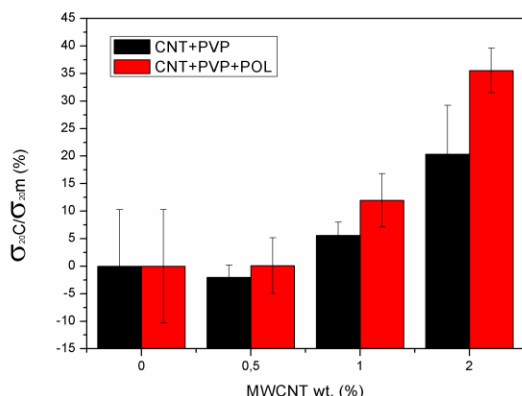


Figura 3. Mejora de la resistencia al 20% de deformación en función del porcentaje de refuerzo de CNC funcionalizados con PVP y con PVP+PDA (POL) en peso.

4. Conclusiones

Las conclusiones de este estudio se resumen en la siguiente lista:

- Los análisis termogravimétricos demuestran que el PVP de bajo peso molecular se une de manera fisicoquímica a los nanotubos de carbono.
- Este recubrimiento de PVP actúa como tensoactivo mejorando las dispersiones.
- El recubrimiento de PVP es efectivo incluso habiendo funcionalizado antes los nanotubos con polidopamina. Lo que soluciona la ventaja de este recubrimiento para la dispersión.
- El PVP actúa como buena interfase y no empeora las propiedades mecánicas.
- La doble funcionalización polidopamina+pvp de las mejores propiedades mecánicas sobre todo para alargamientos superiores al 2% y por lo tanto en el uso final.

Referencias

- [1] Sung In Jeong. Manufacture of elastic biodegradable PLCL scaffolds for mechano-active vascular tissue engineering. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, Volume 15, 2004 - Issue 5. ()
- [2] Byrne, Michele T.; Recent Advances in Research on Carbon Nanotube-Polymer Composites; ADVANCED

MATERIALS,22,1672–1688,2010.(0.1002/adma.200901545).

- [3] Ruchir V Mundra; Nanotubes in biological applications; Current Opinion in Biotechnology; Volume 28, August 2014, Pages 25-32.
- [4] Jiwei Cui. Immobilization and Intracellular Delivery of an Anticancer Drug Using Mussel-Inspired Polydopamine Capsules. Biomacromolecules 2012 13 (8), 2225-2228,(DOI: 10.1021/bm300835r)

5. Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación del Ministerio de Innovación y Competitividad MINECO (proyecto MAT2013-45559-P) y al Departamento de Educación, Universidades e Investigación del Gobierno Vasco GV/EJ (GIC12/161-IT-632-1).. H. A. agradece a la UPV/EHU la financiación de su beca predoctoral.

Andamios de PLGA/nHA para regeneración ósea, efectos de su composición sobre Citotoxicidad y degradación In Vitro

E. Díaz Tajada¹, I. Puerto Lecanda¹, I. Ibáñez Fernández¹

^{F1} Departamento de Ingeniería Minera, Metalúrgica y Ciencia de los Materiales, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Bilbao, Spain. esperanza.diaz@ehu.eus; igor.puerto@ehu.eus; itsaso.ibanez@ehu.eus

Resumen

Se estudia la influencia de la composición de andamios de poli(lactida-co-glicolida)/nanohidroxiapatita (PLGA/nHA), sobre la citotoxicidad y el ritmo de degradación, en el contexto de la regeneración de tejido óseo. Los andamios se fabrican por separación de fases inducida térmicamente (TIPS) y el estudio de degradación se realiza in vitro, con tampón fosfato salino (PBS) a 37°C y durante 8 semanas. Se analizan tanto la influencia de la concentración de partículas bioactivas como la composición de copolímero sobre el grado de degradación y la citotoxicidad de las muestras. Las medidas de peso molecular, pH, absorción de agua y morfología de los andamios indicaron que aquellos con ratio molar lactida/glicolida menor se degradaban más rápido, debido a su mayor hidrofiliidad. La evaluación de la citotoxicidad se llevó a cabo por el método estándar ISO10993-5 demostrando que ninguna de las muestras era citotóxica.

1. Introducción

La fabricación de andamios con propiedades, forma y tamaño adecuados constituye el principal reto para la ingeniería de tejidos. En general diremos que un andamio debe facilitar la adhesión, la diferenciación y la proliferación de las células. El andamio cumple también la función de guiar el crecimiento del tejido u órgano, facilitando su supervivencia y desapareciendo cuando ya no sea necesario para permitir la integración con el tejido nativo. Un andamio debe ser biocompatible, poroso, tridimensional, bioactivo, biodegradable, debiendo además presentar propiedades mecánicas similares a las del tejido a sustituir [1-3].

Uno de los aspectos más importantes en el desarrollo de estos soportes, es el control de la degradación. Los andamios son estructuras diseñadas para ser usadas por un periodo de tiempo limitado, por lo que deben degradarse y reabsorberse sin producir productos que sean perjudiciales para el cuerpo y a un ritmo igual o ligeramente inferior al de crecimiento del nuevo tejido. [4]

Existe una gran cantidad de materiales que han sido propuestos y estudiados para este tipo de aplicaciones, entre los que destacan los polímeros biodegradables, que han demostrado ofrecer propiedades inigualables para la fabricación de andamios. La poli(DL-lactida-co-glicolida) es un copolímero de PDLA y PGA muy utilizado en ingeniería tisular. Cuenta con aprobación de la FDA para uso clínico y combina buenas propiedades mecánicas con una excelente procesabilidad y un periodo de degradación ajustable. Al igual que la mayoría de poliésteres alifáticos, se degrada mediante simple hidrólisis de sus enlaces éster, dando como resultado ácido láctico y ácido glicólico, que

son eliminados a través del ciclo de Krebs. Además, su cinética de degradación depende en gran medida de la ratio de los monómeros y del peso molecular relativo de éstos. [5]

La hidroxiapatita (Ca₅(PO₄)₃(OH)) es un mineral bioactivo y biodegradable que ha sido ampliamente usado durante los últimos 40 años en aplicaciones tales como recubrimiento de prótesis, implantes dentales, cirugía maxilofacial o andamios para el crecimiento de hueso. Se calcula que en torno al 50% del tejido óseo humano está formado por este mineral. La principal ventaja de la hidroxiapatita es que el hueso es capaz de unirse químicamente a ella sin crear una interface de colágeno, como pasa con otro tipo de biomateriales inertes. [6]

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

En este estudio se han utilizado dos copolímeros distintos de poli(DL-lactida-co-glicolida) (PLGA), con diferente ratio molar: Purasorb PDLG5004, con ratio 53/47 y Purasorb PDLG7502, con ratio 75/25, ambos suministrados por PURAC (Holanda). Como aditivo para la fabricación de andamios se utilizó nanohidroxiapatita (nHA), que fue suministrada por Aldrich Chemistry (EEUU), con un tamaño de partícula menor de 200 nm y un peso molecular de 502,31 g/ml. Como disolvente para la fabricación se usó 1,4 Dioxano fabricado por Panreac (Barcelona, España). Para el estudio de degradación *in vitro* se utilizó solución tampón salina (PBS) de Fluka Analytical (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA), con un pH de 7,2.

2.2. Fabricación

Los andamios se fabricaron mediante separación de fases inducida térmicamente (TIPS). Para la fabricación se creó una disolución de polímero y 1,4 dioxano con una concentración 2,5 % (w/v) que era vertida en moldes de aluminio. La nHA fue dispersada por ultrasonidos en concentraciones de 0, 10 30 y 50% con respecto al peso total del polímero. La mezcla resultante fue enfriada para provocar la separación de fases y se extrajo el disolvente mediante liofilización. Por este método se obtuvieron soportes con una porosidad superior al 90%.

2.3. Ensayo de citotoxicidad

Se realizó una evaluación indirecta de la citotoxicidad de las muestras mediante una adaptación del método estándar ISO 10993-5. Para el ensayo *in vitro* se cortaron membranas de 0,1mg/ml y se esterilizaron mediante

radiación UV. Antes de realizar el cultivo, las muestras fueron lavadas con solución tampón salina (PBS) para eliminar cualquier rastro residual de disolvente.

Las muestras se sumergieron en un medio de extracción DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium), conteniendo 1 g/L de glucosa (Gibco) suplementada con un 10% de suero fetal bovino (FBS, Biochrom) y un 1% de penicilina/estreptomicina (P/S, Biochrom). A continuación, se incubaron durante 24 horas a 37°C en una atmósfera con un grado de humedad del 95% y un 5% de CO₂. Se utilizó un 20% de dimetil sulfoxido (DMSO, Sigma Aldrich) como control positivo, y el medio de cultivo celular como control negativo.

Del mismo modo se utilizó una línea de células preostoblastos de ratón (MC3E3-E1, mus musculus calvaria). Las células se cultivaron sobre placas de poliestireno con una densidad de 3x10⁴ células/ml, se mantuvieron durante 24 horas para permitir su adhesión a la placa, transcurrido este tiempo se extrajo el medio de cultivo y se añadió el medio de extracción (100µl). Después las células se cultivaron durante 24 y 72 horas más. En cada punto de control se cuantificó la viabilidad de las células mediante un ensayo de MTT.

El ensayo MTT mide la actividad mitocondrial de las células, reflejando el número de células viables. Básicamente las células viables con metabolismo activo convierten el MTT produciendo una coloración púrpura, cuya densidad óptica puede ser medida. El porcentaje de células viables se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Células viables (\%)} = \frac{\text{absorbancia de la muestra}}{\text{absorbancia del control negativo}} \times 100$$

2.4. Degradación in vitro

Las muestras fueron cortadas en trozos rectangulares de unos 0,5 cm² y peso similar, en torno a los 20 mg. Tras ser pesadas se introdujeron en viales idénticos que contenían 10 ml de solución tampón salina (PBS), sumergiéndolas por completo. La degradación tuvo lugar en un horno termostático a 37 °C y en condiciones estáticas.

Transcurridos los periodos de degradación establecidos (1, 2, 3, 4, 6 u 8 semanas), las muestras eran extraídas, se les retiraba cuidadosamente la humedad superficial y eran pesadas para determinar la absorción de agua. Las variaciones en el pH de la solución tampón fueron determinadas utilizando un pH-metro PCE 228 (Instrumentos PCE, España) y corregidas por temperatura. Finalmente, las muestras se dejaron secar varias semanas durante las cuales fueron regularmente pesadas hasta que su peso se estabilizó. Así se pudo determinar el peso en seco tras la degradación.

2.5. Caracterización

Se realizó un estudio completo de caracterización de las muestras mediante las siguientes técnicas:

2.5.1. Absorción de agua y pérdida de peso

La absorción de agua y pérdida de peso se evaluaron pesando las muestras. Para el cálculo de la absorción se utilizó la siguiente ecuación:

$$W_a = \frac{W_w - W_r}{W_r} \times 100$$

Siendo W_w el peso de las muestras mojadas tras la degradación y W_r el peso residual de las muestras degradadas una vez secas. Para el cálculo de la pérdida de peso se utilizó la siguiente ecuación:

$$W_L = \frac{W_0 - W_r}{W_0} \times 100$$

Donde W₀ es la masa original de las muestras.

2.5.2. Análisis SEM

La morfología de los andamios y de las células cultivadas se evaluó mediante el uso de un microscopio electrónico de barrido (SEM, HITACHI S-3400N, Tokio, Japón). Antes del análisis las muestras fueron metalizadas con una fina capa de oro en un metalizador JEL JFC-1100 (Jeol, Peabody, MA, USA) a 1200 V y 5 mA.s.

2.5.3. Cromatografía de Permeación de Gel (GPC)

Se determinó peso molecular promedio en peso (M_w), peso molecular promedio en número (M_n) e índice de polidispersidad (I=M_w/M_n), mediante el uso de un cromatógrafo de permeación de gel (GPC, Perkin Elmer 200). Para ello las muestras fueron disueltas en tetrahidrofurano (THF) al 2% y se utilizó un refractómetro diferencial Perkin Elmer 200 como detector. La calibración se realizó de acuerdo a los estándares del poliestireno con un caudal de 1 ml/min. Se utilizaron cuatro columnas Phenogel (Phenomenex) en serie con un tamaño de partícula de 5 µm.

2.5.4. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Las características térmicas de los polímeros se determinaron mediante un calorímetro diferencial de barrido (DSC, Q200 de TA Instruments) equipado con un enfriador. Se utilizaron muestras de unos 6 mg que fueron encapsuladas en crisoles de aluminio del tipo Tzero. Como gas de purga se empleó nitrógeno con el fin de evitar la degradación termo-oxidativa de las muestras durante los experimentos. Los barridos comprendieron temperaturas de -50 a 200 °C con ratios de calentamiento de 10 °C/min y ratios de enfriamiento de 20 °C/min.

3. Resultados y conclusiones

3.1. Citotoxicidad

Se evaluó la citotoxicidad de los diferentes soportes de PLGA y PLGA/nHA, fabricados con ambos copolímeros (PLGA 53/47 y PLGA 75/25), mediante el ensayo MTT. Los resultados quedan recogidos a continuación en la Figura 1.

Según los estándares ISO 10993-5 para que una muestra se considere citotóxica debe reducir la viabilidad en un 30% o más. Como se puede ver en la Figura 1 ninguna de las muestras resultó citotóxica transcurridas 72 horas. La incorporación de refuerzos bioactivos se considera un medio para mejorar las propiedades del polímero y su vez la nHA mejora la adhesión celular [7]. En nuestro caso, tras 72 horas, la viabilidad celular de las muestras logró valores superiores al 100%, lo que puede ser atribuible a los

materiales elegidos, y en especial al efecto que la nHA tiene sobre la proliferación de osteoblastos.[8,9]

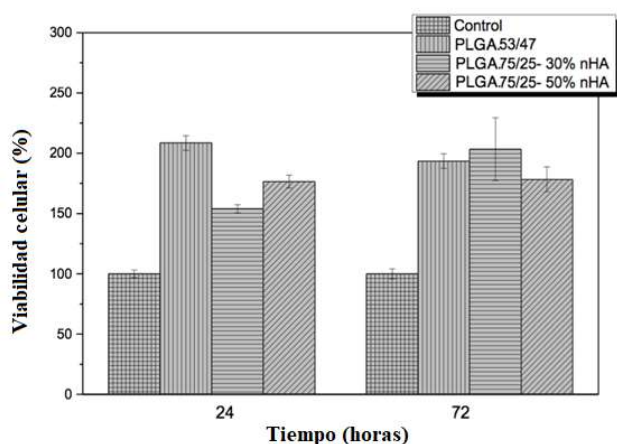


Figura 1. Viabilidad celular a 24 y 72 horas

Con el objetivo de determinar la idoneidad de los soportes se observó la morfología de las células cultivadas mediante microscopía SEM. Una de las micrografías resultantes puede verse en la Figura 2.

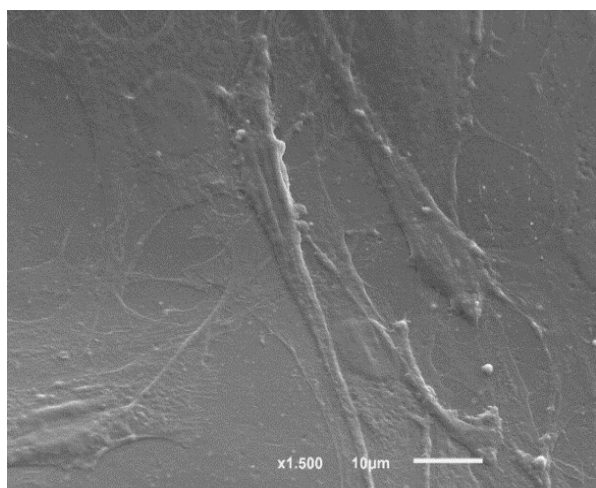


Figura 2. Morfología de un preostoblasto MC3T3-E1, cultivado sobre un andamio de PLGA 75/25 y 10% de nHA

La micrografía preostoblastos tras 3 días de cultivo sobre muestras de PLGA con nHA. Las células muestran una disposición al azar sobre las membranas. Estudios anteriores han demostrado que la introducción de nHA puede mejorar tanto la hidrofiliidad como las propiedades mecánicas a la vez que favorece la viabilidad de los osteoblastos y la regeneración ósea. [9]

3.2. Estudio de degradación

El control de la cinética de degradación es un factor vital en la fabricación de andamios, una degradación demasiado rápida podría comprometer la integridad mecánica del andamio, mientras que una degradación demasiado lenta puede interferir en la integración del tejido regenerado [4]

3.2.1. Pérdida de peso y peso molecular

La reducción de peso molecular y el aumento de la polidispersidad son los primeros indicadores de la degradación de un polímero. Durante el proceso de

degradación lo lógico es que las cadenas macromoleculares se vayan rompiendo como consecuencia del proceso de hidrólisis, con lo que su peso molecular se hará más pequeño y al tener más cadenas macromoleculares la diferencia entre sus pesos moleculares será mayor y la polidispersidad aumentará.

El análisis de las muestras con GPC permitió calcular estos parámetros. Se observó una reducción sistemática del peso molecular prácticamente desde el principio del estudio de degradación para todas las muestras. Sin embargo, las muestras de ambos copolímeros con nHA se degradaron más lentamente. Parece que el uso de nanopartículas tuvo un efecto amortiguador en la interfase entre la DLGA y la nHA, evitando la penetración de PBS en las paredes del scaffold y frenando la degradación al neutralizar el efecto catalítico de los grupos carbonilos formados al romperse las cadenas del polímero. Como consecuencia los valores de pérdida de peso molecular fueron más bajos.

Comparando los andamios de ambos copolímeros pudimos comprobar que el PLGA 53/47 sufrió una reducción del peso molecular mucho mayor que el PLGA 75/25, de tal modo que las muestras de andamio fabricadas con PLGA 53/47 puro sufrieron una degradación casi total en apenas 3 semanas. El peso molecular fue casi el doble al final de la degradación para muestras de PLGA 75/25. Esto se explica por el contenido más bajo de ácido glicólico en el sistema.

3.2.2. Absorción de agua

Las muestras con mayor contenido de nHA fueron capaces de estabilizar la absorción de agua a partir de la tercera o cuarta semana de degradación. El proceso de absorción es un equilibrio entre la disolución de oligómeros en la solución y la absorción de PBS. Un incremento en la absorción indica un aumento de la degradación. Un contenido mayor de unidades más hidrófilas (como el ácido glicólico) en el copolímero, facilita la absorción y difusión de agua y por lo tanto la hidrólisis. Por todo esto podemos afirmar que el comportamiento del andamio frente a la degradación depende tanto de la composición del copolímero como del material bioactivo que se haya utilizado. En general el PLGA 75/25, se mostró más hidrófobo, pero la inclusión de nHA aumento sus niveles de absorción en términos generales.

3.2.3. pH

Los cambios en el pH del medio acuoso de degradación a lo largo del tiempo, sirven para comprobar la liberación de residuos ácidos de las muestras. Cuanto mayor es la formación de ácidos mayor será la disminución del pH. Esta determinación también proporciona información sobre la producción total de ácido, y en última instancia sobre el grado de degradación

La tendencia general para todas las muestras fue de una disminución moderada en el pH del medio de degradación. En los andamios compuestos de PLGA 53/47/nHA el pH también descendió de manera constante pero su pH se mantuvo por encima del de las muestras de DLGA puro.

En cuanto a los andamios de PLGA 75/25, al contrario de lo que ocurría con el DLGA 53/47, las muestras sin nHA fueron las que experimentaron una caída de pH menor, lo que indica que liberaron al medio menos cantidad de ácido que el resto. Teniendo en cuenta que los datos de GPC indican que éstas eran las muestras más degradadas, es muy posible que estuviesen sufriendo una degradación en bloque autocatalizada, en tal caso los productos ácidos se habrían mantenido en el interior del andamio, y no habrían sido liberados.

3.2.4. Análisis térmico (DSC)

La caracterización mediante DSC nos permitió observar los cambios en las propiedades térmicas (T_g , T_m y ΔH_m) acontecidos durante la degradación de los polímeros. El PLGA 75/25 mostró cierto grado de cristalinidad mientras que el PLGA 53/47 resultó ser amorfo. Sin embargo, todas las muestras de andamio mostraron un comportamiento amorfo, seguramente debido al tratamiento térmico utilizado durante su fabricación y a que el ensayo de degradación se llevó a cabo por debajo de la T_g del material, impidiendo un posible fenómeno de cristalización posterior. Algunos autores han postulado que el comportamiento en degradación de los polímeros amorfos es más favorable para la regeneración de tejido óseo. [5]

3.2.5. SEM

La morfología de los andamios se estudió mediante SEM. El PLGA 75/25 produjo andamios altamente porosos e interconectados, las paredes presentaban microporosidad. El PLGA 53/47 produjo poros más gruesos y sin microporosidad. La adición de nHA no afectó al porcentaje de porosidad, pero sí redujo el tamaño y la alteró la morfología de los poros al interferir en el proceso de cristalización del disolvente. También se observó menos microporosidad en los andamios compuestos de PLGA 75/25.

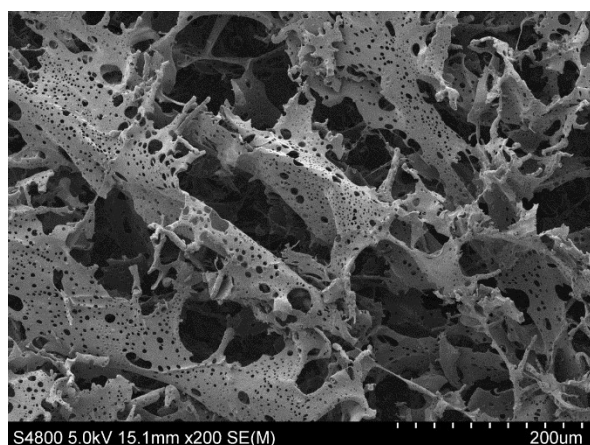


Figura 3. Micrografía SEM de andamios de DLGA 75/25 sin degradar.

En cuanto al proceso de degradación los andamios más porosos o con tamaño de poro más pequeño se degradan más lentamente que aquellos con poros más grandes, menos poros o paredes más anchas, ya que estos tres factores hacen más difícil la difusión de productos ácidos resultantes de la degradación por el interior del soporte poroso, dificultando las reacciones de hidrólisis. [10]

4. Conclusiones

El estudio de degradación in vitro de andamios de PLGA 53/47 y PLGA 75/25 y nHA nos ha permitido confirmar la influencia de la ratio de copolímero y la presencia de nHA como moderadores del ritmo de degradación. La nHA modifica la condición hidrofóbica del polímero, permitiendo la entrada de agua, pero a la vez forma una barrera física que dificulta la difusión de esta, retrasando la degradación. El PLGA con una ratio LA/GA menor se degradó más rápido al ser más hidrófilo. Ninguna muestra de PLGA ni su composite con nHA mostró citotoxicidad y a su vez esta nHA demostró ser un refuerzo con propiedades bioactivas. [11]

Referencias

- [1] Chen, G.; Ushida, T.; Tateishi, T. Scaffold design for tissue engineering. *Macromol. Biosci.* 2002, 2 (2), pp 67–77.
- [2] Vallet, M. Tendencias en Biomateriales. *Eidon* 2010, 33 (33), pp 8–12. http://www.fcs.es/docs/eidon/33/EIDON_33_biomateriales_008_012.pdf (Consultado: septiembre 2017).
- [3] Chen, Q.; Roether, J.A.; Boccaccini, A.R. Tissue engineering scaffolds from bioactive glass and composite materials. In *Topics in Tissue Engineering*; Reis, N.A.R., Chiellini, F. Eds., 2008; Vol. 4.
- [4] Naderi, H.; Matin, M.M.; Bahrami, A.R. Review paper: Critical issues in tissue engineering: Biomaterials, cell sources, angiogenesis, and drug delivery systems. *J. Biomater. Appl.* 2011, 26 (4), pp 383–417.ç
- [5] Pan, Z.; Ding, J. Poly(lactide-co-glycolide) porous scaffolds for tissue engineering and regenerative medicine. *Interface Focus.* 2012, 2, pp 366–377. (doi:10.1098/rsfs.2011.0123)
- [6] Tajbakhsh, S.; Hajiali, F. A comprehensive study on the fabrication and properties of biocomposites of poly(lactic acid)/ceramics for bone tissue engineering. *Mater Sci Eng C-Mater for Biol Applic.* 2017, 70, pp 897-912, (DOI:10.1016/j.msec.2016.09.008).
- [7] Smith, I.O.; McCabe, L.R. and Baumann M.J., MC3T3-E1 osteoblast attachment and proliferation on porous hydroxyapatite scaffolds fabricated with nanophase powder. *Internat. Jour. Of Nanomedic.*,2006, 1(2): pp 189-194
- [8] Roohani-Esfahani, S.I. et al.; A bioceramic with enhanced osteogenic properties to regulate the function of osteoblastic and osteocalastic cells for bone tissue regeneration. *Biomed. Mater.*, 2016. 11(3).
- [9] Messias, A.D.; Aragones, A.; Duck, E.A.D. PLGA-Hydroxyapatite Composite Scaffolds for Osteoblastic-Like Cells, *Bioceramics* 21, M. Prado and C. Zavaglia, Editors. 2009, Trans Tech Publications Ltd: Durnten-Zurich. pp 461-464
- [10] Linbo, W.; Jiandong, D. In vitro degradation of three-dimensional porous poly(d,l-lactide-coglycolide) scaffolds for tissue engineering. *Biomater.* 2004, 25 pp. 5821–5830, (DOI: 10.1016).
- [11] Diaz, E. et al. The Influence of Copolymer Composition on PLGA/nHA Scaffolds Cytotoxicity and In Vitro Degradation. *Nanomaterials*, 2017, 7, 173 (DOI:10/3390/nano7070173)

Sistemas inteligentes y sensores

Miércoles, 29 de Noviembre

Implementación de un sistema de trazabilidad de la temperatura de conservación y transporte de los concentrados de hematíes enviados a quirófano. Reutilización de los hemoderivados bien conservados

M. Vara Pampliega¹, A. Uresandi Iruin¹, J.J. Mateos Mazón¹, R. Benito Ruiz de la Peña², I. Ustarroz Aguirre³, J.C. García Ruiz¹

¹ Servicio de Hematología, Hospital Universitario Cruces, Baracaldo, España, miriam.varapampliega@osakidetza.eus

² Unidad de innovación, OSI Eskerraldea Enkarterri Cruces, Baracaldo, España, Raquel.benitoruizdelapena@osakidetza.eus

³ Evaluación económica, OSI Eskerraldea Enkarterri Cruces, Baracaldo, España, Iker.ustarrozaguirre@osakidetza.eus

Resumen

El QTA Tracer System es un sistema que registra la trazabilidad de la temperatura de conservación y transporte de los hemoderivados. Su implementación en el Servicio de Transfusión del Hospital Universitario Cruces para los concentrados de hematíes (CH) que se envían a los quirófanos de Cirugía Cardíaca y Cirugía Hepática ha permitido disminuir el número de CH que se desechaban previamente por desconocer la temperatura a la que habían estado conservados en quirófano y durante su transporte.

1. Objetivo

En nuestro Hospital, los quirófanos de cirugía hepática y cirugía cardíaca solicitan tener durante la intervención entre 5 y 10 concentrados de hematíes (CH) ya cruzados y listos para transfundir durante la cirugía, por si fuese necesario. Nos encontrábamos que una parte importante de estos concentrados no se usaban en quirófano y se devolvían al Servicio de Transfusión. En el Servicio de Transfusión, como desconocíamos las condiciones de conservación en el quirófano, los desechábamos.

Según el *Real decreto 1088/2005, de 16 de septiembre, BOE número 225 (Spain)*, los CH deben mantenerse entre 1 y 10 °C durante el transporte y conservación, sin que se puedan volver a refrigerar las unidades que superen dicha temperatura^{2,5}. El número de unidades que desechábamos al año era una media de 734 unidades/año, un 3% de la unidades de nuestro stock. Con el fin de disminuir la cantidad de CH devueltos y desechados, decidimos instaurar un circuito para mantener la temperatura de los CH dentro del rango adecuado. Lo hemos controlado mediante el QTA Tracer System by Tridentify que registra la temperatura.

2. Material y método

El QTA Tracer System usa dispositivos inalámbricos que van unidos a la unidad del CH desde su salida del Servicio de Transfusión hasta su regreso de quirófano, si

no ha sido transfundida. El dispositivo registra, almacena y procesa las variaciones de temperatura cada tres minutos. Los datos de los dispositivos de los CH devueltos al Servicio de Transfusión son analizados a su devolución a dicho servicio.

3. Resultados

Analizamos los resultados de los CH devueltos desde quirófano de Cirugía Cardíaca y Cirugía Hepática al Servicio de Transfusión del Hospital Universitario Cruces entre el 1 de enero de 2016 y el 31 de agosto de 2017.

Durante estos 20 meses, se han devuelto 1376 CH de los quirófanos de Cirugía Cardíaca y Hepática, de los cuales, se han reutilizado 1091 (79.3% de las unidades devueltas), que se han transfundido posteriormente sin complicaciones.

El registro de la trazabilidad de la temperatura nos ha permitido detectar errores en el circuito y resolverlos, lo que queda reflejado en el aumento progresivo de los CH recuperados (ver Tabla 1). Este método nos permite conservar CH de características específicas reservados para algunos pacientes con necesidades especiales, como CH lavados en un paciente sometido a trasplante hepático con un antecedente de shock anafiláctico tras la transfusión de plasma.

De los CH devueltos, se han desechado 285 (20.7%), de los cuales, la mayoría (166) se desecharon por haberse “roto” la cadena de temperatura de conservación tanto por exceso como por congelación, lo que suponía un riesgo para reutilizar en siguientes transfusiones. El resto de las desechadas, 116 CH (41.8%), se debieron a un error en la lectura de los dispositivos, lo que suponía desconocer la temperatura a la que se habían conservado y por lo tanto los desechamos.

4. Conclusiones

La implantación de un sistema de trazabilidad de la temperatura de los CH durante su transporte y conservación en quirófano, nos ha permitido:

- Mejorar el circuito para el transporte de los CH dentro del hospital y conservación en el quirófano.
- Recuperar un 79% de las unidades devueltas del quirófano.
- Recuperar CH de características especiales que sin un sistema de control de temperatura hubiésemos desechado.
- Reducir los CH desechados de las donaciones voluntarias.

5. Referencias

- [1] Real decreto 1088/2005, de 16 de septiembre. Boletín Oficial del Estado, número 225.
- [2] John D. Roback. Technical Manual by AABB. Seventeenth edition. (ISBN: 978-1-56395-315-6).
- [3] Eikelboom et al. Duration of red cell storage before transfusion and in-hospital mortality. Am heart J 2010; 159:737-743.e.1.
- [4] S. Ramirez Arcos et al. Bacterial growth in red blood cell units exposed to uncontrolled temperatures: challenging the 30-minute rule. Vox Sanguinis (2013) 105, 100–107
- [5] T.Wagner et al. Impact of constant storage temperatures and multiple warming cycles on the quality of stored red blood cells. Vox Sanguinis (2014) 106, 45–54

Mes y año	Devueltas con trazador	Recuperadas	% Recuperadas	Devueltas con trazador anual	Recuperadas anual	Cifra Anual		Desechadas con trazador
ene-16	66	50	76%	778	607	78%		16
feb-16	80	65	81%					15
mar-16	55	41	75%					14
abr-16	67	48	72%					19
may-16	73	50	68%					23
jun-16	39	22	56%					17
jul-16	68	47	69%					21
ago-16	40	32	80%					8
sep-16	77	64	83%					13
oct-16	69	62	90%					7
nov-16	68	60	88%					8
dic-16	76	66	87%					10
ene-17	96	88	92%	598	484	81%		8
feb-17	103	79	77%					24
mar-17	68	59	87%					9
abr-17	66	43	65%					23
may-17	84	55	65%					29
jun-17	78	69	88%					9
jul-17	57	51	89%					6
ago-17	46	40	87%					6
TOTAL	1376	1091	79%					285

Tabla 1. Registro de las unidades monitorizadas con QTA Tracer System.

Optimización de las redes de tratamiento en drogodependencia mediante el uso de servicios cognitivos en la nube

C. Pérez-Gandía^{1,2}, J.M. Iniesta Chamorro², J. Tapia Galisteo², G. García-Saez², C. Madrigal², D. Urgeles³, ME. Hernando^{2,1}

¹ Centro de Investigación en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, CIBER, Madrid, España

² Grupo de Bioingeniería y Telemedicina (GBT), Dpto. de Tecnología Fotónica y Bioingeniería, Universidad Politécnica de Madrid, España, {cperez, jminieta, jtapia, ggarcia, cmadrigal, elena}@gbt.tfo.upm.es

³ Psiquiatría. Responsable de I+D+I. Nuestra Señora de la Paz, Madrid, España, diego.urgeles@sjd.es

Resumen

La adhesión al tratamiento en el ámbito de la drogodependencia está fuertemente ligada al éxito del mismo. Sin embargo, la alta tasa de abandono en los programas relacionados con la adicción a la cocaína, es un rasgo común y creciente en la mayoría de los centros dedicados al seguimiento y recuperación de pacientes consumidores. Dado que el tratamiento de las adicciones implica un gran consumo de recursos socio-sanitarios y que los recursos especializados en drogodependencia son muy limitados, el abandono del tratamiento se convierte en un grave problema. La motivación de este trabajo es mejorar la planificación y selección de las redes terapéuticas disponibles en adicción a la cocaína. Aprovechando la tecnología de IBM, que facilita la integración de servicios cognitivos en la nube, se ha desarrollado una plataforma web que cumple dos funciones: (1) almacenar la información de cada expediente de forma precisa y homogénea; (2) mediante un modelo predictivo basado en dicha información, estimar la probabilidad de éxito de un paciente (entendida como la probabilidad de completar el tratamiento), evitando así el consumo inadecuado de recursos asistenciales.

1. Introducción

El consumo de drogas constituye en la actualidad uno de los problemas de salud pública más importantes y que mayor gasto de recursos genera en los países occidentales [1]. En España el consumo de cocaína se ha convertido en un problema de tendencia creciente, siendo la segunda sustancia psicotrópica de abuso más consumida en el mundo, tras el cannabis.

El tratamiento de personas que sufren adicciones al alcohol, cannabis, heroína, cocaína y otras sustancias implica un gran consumo de recursos socio-sanitarios. Se han establecido unidades especializadas en las que uno de los objetivos es siempre reducir o eliminar la adicción, además de los que requiera la situación personal del paciente. En estas redes terapéuticas se pueden diferenciar: tratamientos ambulatorios (el paciente no pernocta en el centro) y tratamientos residenciales (el paciente pernocta en unidades de hospitalización).

La Comunidad de Madrid (CAM) contempla una red de recursos entre los que se encuentran los Centros de Atención Integral a Drogodependientes (CAIDs) en los que se atiende a los pacientes de forma individualizada con carácter ambulatorio. Entre los servicios ofrecidos

destacan la valoración interdisciplinar del paciente y un abordaje integral del tratamiento, que contempla aspectos sanitarios, psicológicos, farmacológicos, familiares, sociales y ocupacionales [2].

Los recursos residenciales están dirigidos a situaciones de mayor gravedad, caracterizadas por: la imposibilidad de mantener la abstinencia ambulatoria, la existencia de conductas de riesgo asociadas al consumo, una insuficiente respuesta en otros dispositivos o la complicación añadida de problemas mentales derivados o no del consumo de drogas. Entre los centros residenciales disponibles en la red de la CAM, se encuentra el Centro de Atención Integral al Cocainómano (CAIC). La solicitud de ingreso en este centro requiere la cumplimentación de un informe, (*informe de derivación*), por parte de los profesionales responsables del paciente en el CAID donde previamente fue tratado. En los diferentes apartados del informe (10-15 pág. en formato Word), se registran datos personales del paciente y datos históricos relativos al problema referido. Un equipo especializado analiza dicha información y aprueba o no, la derivación del paciente al CAIC.

Cabe destacar en este proceso la ausencia de una herramienta de ayuda a la decisión que pueda asistir al profesional responsable de tomar la decisión final sobre la derivación del paciente.

El objetivo de este trabajo es el diseño y desarrollo de una plataforma web que facilite la gestión de la información y la comunicación entre los médicos implicados en la toma de decisiones sobre la trayectoria terapéutica del paciente drogodependiente. Como valor añadido, la plataforma implementa un modelo predictivo, que permite estimar la probabilidad de éxito en el recurso elegido, entendida como la probabilidad de completar el tratamiento en el centro al que se va a derivar al paciente (el CAIC).

2. Material y Métodos

2.1. Despliegue de servicios en la nube

La plataforma web se conecta a los servicios cognitivos de IBM (Watson Machine Learning) [3,4] desplegados en la nube (Bluemix).

Dicha plataforma despliega una interfaz web, muy similar al informe de derivación (el formulario web, apartado 2.4),

que permite introducir la información relativa a un paciente y su almacenamiento en una base de datos.

Mediante la plataforma es posible consultar la predicción sobre la probabilidad de que cualquier paciente, cuyos datos hayan sido registrados en el sistema, finalice el tratamiento. El modelo de predicción desarrollado (apartado 2.3) ha sido desplegado como un servicio en la nube, sobre la plataforma IBM Bluemix.

La Figura 1 muestra el flujo de comunicaciones entre los diferentes elementos del sistema en el caso de solicitar la predicción sobre un expediente previamente almacenado.

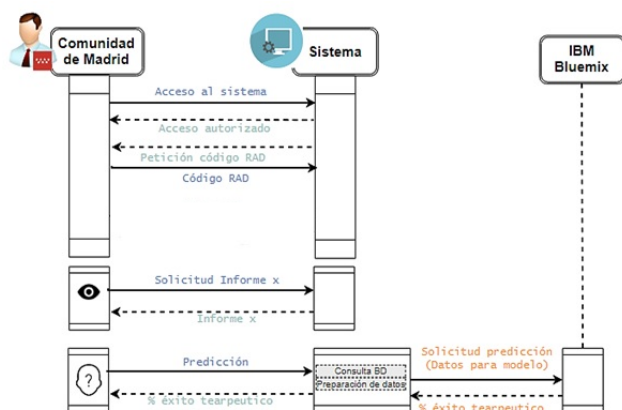


Figura 1. Flujo de comunicaciones en el sistema

2.2. Formulario web

Uno de los requisitos de la plataforma web desarrollada fue facilitar la recogida de la información que utiliza el modelo de predicción. Para ello, utilizando tecnologías web (HTML, CSS, JavaScript y AngularJS), se ha desplegado una aplicación en un servidor web (NodeJS) con una interfaz web, muy similar al informe de derivación. El formulario web sigue la estructura de apartados en los que está organizado actualmente el informe, para facilitar la labor de los profesionales médicos que tendrían que cumplimentarlo. Los códigos que se utilizan para representar algunas variables pueden llegar a resultar complejos, formar parte de una larga lista o mezclarse con los códigos de otras variables. Por ejemplo, respecto a los hábitos de consumo de sustancias, el informe refleja:

- *frecuencia de consumo*: 1, todos los días; 2, de 4 a 6 días/semana; 3, de 2 a 3 días/semana; 4, 1 día/semana; 5, menos de 1 día/semana; 6, no consumió; 9, desconocida.
- *dónde consume*: CS, casa; CLL, calle; B, bar, pub; T, trabajo; CO, coche; I, indiferente.
- *con quién consume*: S, solo; A, con amigos; P, con su pareja; F, con la familia; C, con conocidos, etc.

El formulario web evita que aparezcan valores incorrectos de algunas variables y que queden sin cumplimentar datos importantes. Para ello se resaltan los campos obligatorios en el formulario web y la aplicación avisa en caso de que se pretenda avanzar sin cumplimentar algún campo obligatorio. La aplicación web facilita el almacenamiento de la información en forma de registro en una base de datos (MySQL), lo que simplifica su uso posterior para continuar entrenando el modelo y para profundizar en la

investigación sobre las causas del abandono del tratamiento.

2.3. Muestra

Este trabajo ha sido desarrollado en el CAIC, centro ubicado en la Clínica Nuestra Señora de la Paz, financiado por la Consejería de Sanidad de la CAM y gestionado por la Orden Hospitalaria San Juan de Dios. Desde su apertura en el año 2001, el CAIC ha atendido a 2328 pacientes adictos a la cocaína, lo que supone una media de unos 170 pacientes atendidos al año. Un 73% de los pacientes que ingresan en este Centro finalizan el tratamiento y son derivados al CAID correspondiente para continuar su seguimiento ambulatorio pero el 27% abandona el tratamiento antes de finalizarlo.

Se han elegido los expedientes de 78 pacientes que solicitaron ingreso entre agosto del 2014 y diciembre del 2015 (16 meses). Se han seleccionado aquellos expedientes de los que se disponía del informe de derivación completo y de un registro fiable sobre el resultado del tratamiento.

Del informe de derivación se han extraído variables objetivas. Algunas de ellas ya han sido relacionadas en diversos estudios con la adhesión al tratamiento [5,6], mientras que otras serán exploradas por primera vez. Entre ellas se encuentran las siguientes: (1) datos personales: sexo, edad en el momento de la derivación, año de nacimiento, nacionalidad, nivel de estudios; (2) resultados de analíticas y medidas clínicas: frecuencia cardíaca, índice de masa corporal (IMC), estado serológico relacionado con el VIH; (3) información sobre las sustancias consumidas: qué sustancias, hábitos de consumo (dónde consume, con quién, actividad asociada al consumo, frecuencia y vía de administración), edad de comienzo del consumo de cada sustancia, frecuencia en el último año y en el último mes; (4) información sobre el tratamiento farmacológico en el momento de la derivación; (5) índice de la actividad del paciente, valorada a través de la Escala de Evaluación de Actividad Global (EEAG); (6) información sobre los tratamientos previos seguidos relacionados con el abuso de las drogas (número de tratamientos ambulatorios y/o residenciales, tiempo de estancia, tiempo de abstinencia después de un tratamiento).

En total se han recogido 100 características por paciente de cada informe de derivación, relacionadas con los seis aspectos mencionados.

A dicha información se ha añadido el resultado del tratamiento seguido en el CAIC, extraído de los informes de seguimiento del paciente durante el periodo de hospitalización, así como el dato del médico responsable de su seguimiento. El resultado del tratamiento es una variable dicotómica, que indica si el paciente finalizó el tratamiento, recibiendo el alta terapéutica o si por el contrario, el tratamiento fue interrumpido, por la causa que fuere, de forma voluntaria o por exigencias de la hospitalización en el CAIC. Esta información fue utilizada para el entrenamiento del modelo de predicción, mientras que el código del médico responsable se añadió como variable de entrada al modelo, junto con las 100 características extraídas del informe de derivación.

2.4. Modelo de predicción

El modelo predictivo está basado en la información recogida por la plataforma y en algoritmos de análisis inteligente de datos.

Para implementar, entrenar y validar el modelo de predicción, se ha utilizado la herramienta IBM-SPSS Modeler [7]. Se trata de una plataforma de análisis inteligente y extracción de conocimiento que facilita el uso de multitud de técnicas avanzadas de entrenamiento, el diseño de modelos de conocimiento y de predicción, y la integración de los mismos en la nube, sobre la plataforma Bluemix de IBM.

Se ha elegido de entre los modelos de predicción disponibles en la herramienta, un árbol de decisión tipo CHAID (CHI-square Automatic Interaction Detection). El crecimiento del árbol se realiza valorando la interacción entre variables mediante pruebas chi-cuadrado. En cada paso, CHAID elige la variable independiente (predictora) que presenta la interacción más fuerte con la variable dependiente (la salida). Las categorías de cada predictor se funden si no son significativamente distintas respecto a la variable dependiente.

Las entradas del modelo son las características extraídas del informe de derivación (99 variables -se elimina el identificador de paciente-) y el código del médico responsable del tratamiento, recogido de la historia clínica abierta en el CAIC. La salida del modelo es el resultado del tratamiento según la historia clínica, expresado como una variable dicotómica: SI (finalizó el tratamiento y recibió el alta terapéutica en hospitalización), NO (no finalizó el tratamiento).

La herramienta IBM SPSS añade al pronóstico (SI/NO) el margen de confianza del mismo, en forma de probabilidad. Esto permitirá al profesional médico valorar la significancia de la predicción sobre el éxito terapéutico que proporciona el modelo, para un determinado caso.

Para evaluar el modelo, se llevó a cabo una validación cruzada utilizando particiones aleatorias y asignando en cada iteración el 80% del conjunto de datos para entrenamiento y el 20% para su validación.

3. Resultados

3.1. Plataforma completa desplegada en la nube

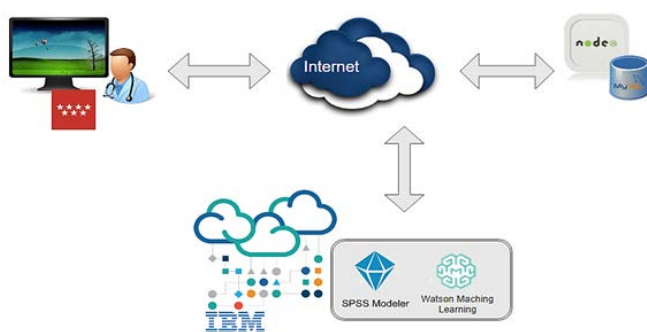


Figura 2. Arquitectura y modelo de comunicaciones

La Figura 2 muestra la arquitectura de la plataforma desarrollada. El usuario accede al servicio por medio de un ordenador y la interfaz web.

La plataforma facilita la cumplimentación del informe de derivación, mediante pantallas que estructuran los datos de manera similar al informe original, como muestran la Figura 3 y la Figura 4. Desde la plataforma es posible acceder al histórico de informes almacenados previamente en la base de datos para editar dichos informes o generar un documento .pdf que muestra toda la información relativa a un expediente concreto, seleccionado por el identificador de paciente (su código RAD).

La imagen muestra una interfaz web de un navegador. En la parte superior, hay logos de 'SaludMadrid', 'Agencia Antidroga' y 'Comunidad de Madrid'. Hay una barra de navegación con opciones como 'NUEVA SOLICITUD', 'AÑADIR RESULTADO', 'ACCESO A HISTORIAL' y 'PREDICIÓN'. El título principal es 'INFORME DE SOLICITUD Y DERIVACIÓN A RECURSO'. Debajo, se ven secciones de '1. DATOS DE IDENTIFICACIÓN' con subsecciones '1.1 Del paciente' y '1.2 Del centro'. En '1.1', se muestran campos para 'Código RAD' (5), 'Año de nacimiento' (1984), 'Sexo' (Mujer/Hombre) y 'Nacionalidad'. En '1.2', se muestra 'Centro' (GAD Arganzuela).

Figura 3. Aspecto general del informe y datos de identificación

La imagen muestra una interfaz web para registrar el consumo de sustancias. El título es '6.2 Consumo actual' y 'Consumo al ingreso del CAIC'. Hay un formulario con 'Sustancias problemáticas' (Cocaína, Heroína, Cannabis, Tabaco, Alcohol, Otras sustancias) y 'LUGAR' (Casa, Calle, Bar/Pub, Trabajo). También hay campos para 'Frecuencia', 'Vía', 'Quién', 'Cuándo' y 'Actividad Asociada'. Ejemplo de entrada: Cocaína (4 a 6 días semana), Pulmonar o Fumada, Trabajo.

Figura 4. Consumo de sustancias al ingreso

La plataforma permite a su vez consultar la predicción del modelo sobre las posibilidades de que un determinado paciente reciba o no el alta terapéutica en el CAIC y la fiabilidad de dicha predicción (Figura 5).

La imagen muestra una interfaz web con el título 'PREDICIÓN'. El texto indica: 'El pronóstico ha sido el de SI derivar al paciente. La probabilidad de dicho resultado ha sido: 90 %'.

Figura 5. Resultado del modelo de predicción

3.2. Descriptivos de la muestra

De los 78 casos estudiados, 55 son hombres (70.5%) y 23 mujeres (29.5%). La edad de los pacientes seleccionados oscila entre los 22 y los 71 años, siendo la edad media de 37 años. La mayoría de los pacientes ha alcanzado un nivel básico de estudios, correspondiente a la ESO (37.2%); un número elevado ha superado el Bachillerato (32.0%); sólo 5 (6.4%) tienen estudios superiores y el resto (24.4%) refieren no tener estudios elementales.

Respecto al consumo de sustancias, la droga principal es la cocaína, motivo por el cual son derivados al CAIC, sin embargo, la mayoría de los pacientes practican un

policonsumo. El uso más extendido de la cocaína en la muestra (77%) es mediante el snifado (vía nasal). Un 14% refiere consumir cocaína fumada y el pequeño porcentaje restante refiere otras vías (oral, intravenosa) o no consumir en el momento del informe -dato de dudosa credibilidad-. La segunda sustancia más consumida es el alcohol (85.6% de la muestra), seguida del cannabis (55.1%), el tabaco (43.6%) y la heroína (16.6%). Un 34.6% refiere consumir otras sustancias psicoactivas (benzodiacepinas, alucinógenos, éxtasis, etc.).

Para el 77% de la muestra, la actual derivación supondría su primer tratamiento en el CAIC, el resto (23%) son pacientes reincidentes en el CAIC y un porcentaje algo superior (31%) ha realizado uno o más tratamientos en algún centro residencial.

El 70% de la muestra seleccionada (55 pacientes) alcanzaron el alta terapéutica en el CAIC y el resto abandonó el tratamiento por diversos motivos, en una fase y tras un número diferente de días de hospitalización, lo que coincide con las estadísticas del Centro

3.3. Modelo de predicción

Se han obtenido 26 variables predictoras. La Figura 6 muestra la importancia relativa de cada uno de dichos predictores en el modelo final, entre los que se encuentran variables relacionadas con:

- Hábitos de consumo de sustancias (Figura 6, azul):
 - Frecuencia de consumo de cannabis (último mes).
 - Hábitos de consumo de cocaína: dónde consume, actividad asociada y vía de administración.
 - Hábitos de consumo de otras drogas: frecuencia de consumo de alcohol (último año y actual); edad de consumo habitual del alcohol y el tabaco; consumo de otras sustancias psicoactivas y consumo de heroína.
- Variables fisiológicas (Figura 6, amarillo):
 - Edad, frecuencia cardiaca, EEAG, IMC (índice de masa corporal) y sexo.

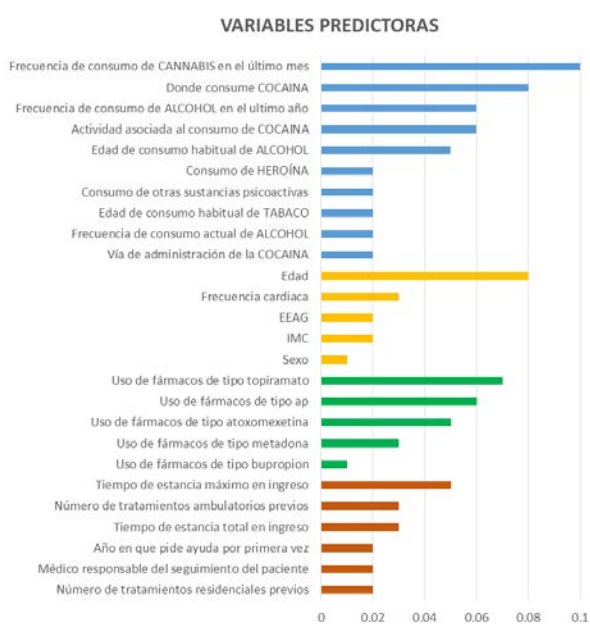


Figura 6. Importancia relativa de las variables predictoras

- Variables relacionadas con el tratamiento farmacológico seguido (Figura 6, verde):
 - Destacan algunos fármacos, clasificados por su principio activo (tipo topiramato, tipo ap, tipo atoxomexetina, metadona, bupropion).
- Variables relacionadas con los tratamientos previos realizados (Figura 6, marrón):
 - Tiempo de estancia máximo y total en ingreso, número de tratamientos ambulatorios/residenciales previos, año en el que pide ayuda por primera vez y el médico responsable de su seguimiento.

La precisión en el conjunto de entrenamiento es del 94.4% y en el conjunto de validación de 87.5%.

4. Conclusiones

La plataforma web desarrollada permite el almacenamiento de información útil para identificar los motivos de la alta tasa de abandono del tratamiento, en los programas relacionados con el consumo de cocaína.

La predicción sobre la probabilidad de finalizar el tratamiento puede ayudar a mejorar la planificación y selección de las redes terapéuticas disponibles. Los pacientes serían derivados con ciertas garantías de adhesión a los tratamientos, evitando el consumo inadecuado de recursos asistenciales. Por otro lado, la identificación de predictores de la interrupción prematura del tratamiento, permitiría aumentar la eficacia de los programas de intervención en adicción a la cocaína, por medio de la modificación de los factores de mal pronóstico.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por IBM en el marco del proyecto PROTheOS (<http://protheos.org/>) y el consorcio CIBER, en el marco del proyecto INT2CARE. Gracias a la colaboración de los profesionales del CAIC se han alcanzado los resultados mostrados, que permitirán ampliar la financiación de esta línea de investigación.

Referencias

- [1] Observatorio Europeo de las Drogas y las Toxicomanías (2016), Informe Europeo sobre Drogas 2016: Tendencias y novedades, Oficina de Publicaciones de la Unión Europea, Luxemburgo.
- [2] Web de Madrid Salud (Ayuntamiento de Madrid). <http://madridsalud.es/centros-de-atencion-a-drogodependencias-cad/> (Sept-2017)
- [3] Web de IBM Bluemix. <https://www.ibm.com/mx-es/marketplace/cloud-platform> (Sept-2017)
- [4] Web de IBM Watson Machine Learning. <https://www.ibm.com/blogs/bluemix/2017/06/ibm-watson-machine-learning-service-description-update/> (Sept-2017)
- [5] Sánchez-Hervás E et al. Abandono del tratamiento en adictos a la cocaína. *Adicciones*, vol 22 (1), 2010, pp 59-64.
- [6] Domínguez-Martín AL et al. Estudio de las causas de abandono en un centro de atención a drogodependientes. *Trastornos adictivos*, vol 10 (2), 2008, pp 112-120.
- [7] Web de IBM SPSS Modeler. <https://www.ibm.com/es-es/marketplace/spss-modeler> (Sept-2017)

Detección y clasificación de patrones globales en lesiones pigmentadas

P. Caramé Matres¹, C. Serrano Gotarredona¹, B. Acha Piñero¹

¹ Dpto. Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, {palcarmat}@alum.us.es, {cserrano,bacha}@us.es

Resumen

El objetivo principal del trabajo es clasificar una lesión pigmentada dada en tres tipos de patrones globales: reticulado, globular y homogéneo. Para ello, primero se ha procedido a buscar el método óptimo de segmentación que nos permita tratar únicamente la zona de interés. Posteriormente se ha realizado la extracción de características de textura basadas en la matriz de coocurrencia y en la Transformada de Fourier, y se ha finalizado clasificando las lesiones en tres posibles clases según su patrón global: reticulado, globular y homogéneo. Para esto último se ha utilizado un sistema Support Vector Machine. Por último, se han analizado los resultados obtenidos, encontrándose una precisión total de 86.95% y una sensibilidad total del 80.63%.

1. Introducción

El melanoma es el tipo de cáncer de piel que presenta mayor tasa de mortalidad, llegando a representar un 80% de las muertes en estos tipos de cáncer. Detectada a tiempo, la curabilidad de este tipo de lesión es de más del 95%. El problema consiste en identificar ese pequeño porcentaje de lesiones que acaban desembocando en melanomas lo antes posible.

El diagnóstico temprano de melanomas es una tarea ardua que requiere de personal altamente cualificado y entrenado. Gran número de estudios han demostrado que la precisión de un especialista en el diagnóstico de melanomas puede ser del 69% en estas primeras etapas, reduciéndose al 12% para los no especialistas. Así pues, el objetivo principal de este trabajo es asistir al dermatólogo y, en especial, al médico no especialista en el análisis de la malignidad de las lesiones pigmentadas.

En este trabajo hemos procesado imágenes obtenidas con una nueva técnica conocida como dermatoscopia o microscopía de epiluminescencia (*Epiluminescence Microscopy*, ELM), que es una técnica no invasiva que usa el aumento óptico para visualizar características morfológicas de la piel que no son detectables a simple vista, mejorando la precisión diagnóstica hasta un 27%.

Una vez obtenida la imagen, para poder dar un diagnóstico, es necesario clasificarla. Son varios los métodos empleados para esta clasificación, destacando el análisis de patrones [1] como método más completo y que proporciona mejores resultados. Consiste en identificar una serie de patrones presentes en las PSL, que pueden ser globales o locales. Los globales son los que se encuentran recubriendo la mayor parte de la lesión y

permiten una clasificación preliminar más rápida. De todos los patrones globales existentes (reticulado, globular, empedrado, homogéneo, estallido de estrellas, paralelo, lacunar, multicomponente e inespecífico) nos centraremos en los siguientes:

- **Reticulado:** está caracterizada por la presencia predominante de red pigmentada en la lesión. La red pigmentada aparece en forma de líneas, delgadas y marrones, que forman una cuadrícula sobre un fondo más homogéneo.
- **Globular:** Caracterizado por la presencia de numerosas estructuras redondeadas u ovaladas con tamaño variado cuya pigmentación puede ir del marrón al gris o incluso al negro.
- **Homogéneo:** Estas lesiones se caracterizan por tener una pigmentación difusa en la que destaca la ausencia de características locales distintivas.

Tenemos un ejemplo de estos patrones en la Figura 1.

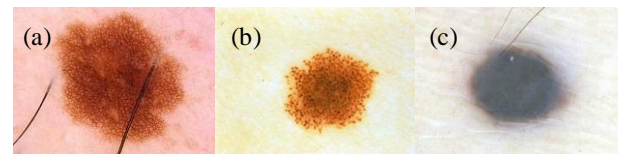


Figura 1. Patrones globales (a)Reticulado; (b)Globular; (c)Homogéneo.

Son pocos los métodos de detección y clasificación de patrones globales que encontramos en la literatura. Entre ellos destaca el de Serrano y Acha [2], donde propusieron un método novedoso de clasificación automática de cinco tipos de patrones globales (reticular, globular, empedrado, homogéneo y paralelo), basado en el campo aleatorio de Markov (*Markov Random Field*, MRF). Los mejores resultados se obtuvieron para el espacio $L^*a^*b^*$ con un 86% de aciertos. En [3] Gola et al. idearon un sistema que, junto con la regla ABCD, trata de clasificar patrones globales, obteniendo una precisión media de un 85%. Sadeghi et al. [4] detectaron y clasificaron cinco tipos de patrones globales (reticular, globular, empedrado, homogéneo y paralelo) mediante técnicas de análisis de texturas basadas en aproximaciones estadísticas, en los que se modela la textura con la probabilidad de distribución conjunta de respuestas de filtros, usando un conjunto de filtros existentes en el estado del arte. Se obtuvieron unos resultados de un 86.8% de aciertos. En su estudio, Abbas et al. [5] extrajeron características tanto de color como de textura para clasificar una lesión en su

patrón global correspondiente. Las características se introdujeron en un clasificador multiclass AdaBoost de manera que pudiesen asignar uno de los 7 tipos de patrones globales a la lesión en cuestión, con una sensibilidad media del 89.28%.

2. Metodología

Nuestro trabajo consiste en desarrollar un Software de análisis de imagen que desempeñe las siguientes funciones: segmentar las lesiones, analizar su contenido en busca de características relevantes, seleccionar las características con mayor poder discriminatorio y clasificar las lesiones en tres posibles grupos (reticuladas, globulares y homogéneas) según el patrón global que tengan, tal y como podemos ver en la Figura 2.



Figura 2. Metodología seguida.

2.1. Segmentación

Previo a la extracción de características, la imagen debe ser segmentada para separar los píxeles pertenecientes a la lesión de los correspondientes a piel sana, los cuales no son de interés.

En nuestro caso, hemos segmentado la imagen a color empleando un algoritmo conocido como **crecimiento de regiones** y fusión, que crea una máscara de la lesión a partir de unos píxeles semilla, buscando en su vecindario píxeles cuya pigmentación difiera de la propia menos que cierta tolerancia. En la Figura 3 tenemos un ejemplo.

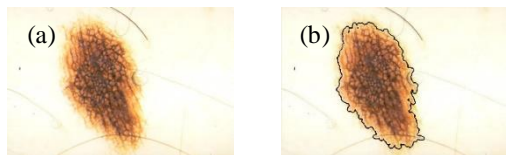


Figura 3. Ejemplo de segmentación con crecimiento de regiones. (a) Imagen original; (b) borde de la lesión.

Para ello se pasó la imagen original del subespacio de color RGB a uno uniforme, el $L^*a^*b^*$.

2.2. Extracción de características

Recorremos la lesión por subimágenes de tamaño 80x80, con un solapamiento de 50 píxeles entre ellas, a las que extraeremos las características.

Para ahorrar coste computacional y mejorar la clasificación, se tienen en cuenta únicamente subimágenes en las que los píxeles de lesión representen al menos un 83% del recorte.

Una vez hecho esto, pasamos a la extracción. En nuestro caso hemos extraído un total de 6 características texturales. De ellas, 4 son derivadas de la matriz de co-ocurrencia, 1 de ellas está basada en la transformada de Fourier, y otra está basada en un procedimiento de detección de red pigmentada.

Todas ellas son características de textura que extraemos usando tres métodos distintos: estadísticos, estructurales y espectrales.

- **Matriz de coocurrencia (GLM):** La matriz de co-ocurrencia es una matriz de frecuencias con la que un nivel de gris, i , aparece en una relación espacial específica (distancia y ángulo determinado) con otro nivel de gris, j . Cada entrada de esta matriz se denota como $P_{i,j}$. Es un método basado en estadísticos de 2º orden porque considera parejas de píxeles vecinos. Revela, por tanto, propiedades sobre la distribución espacial de los niveles de intensidad en la textura de la imagen.

Las características extraídas fueron:

- **Contraste:** Mide la distribución de la matriz alrededor de la diagonal, valorando posiciones alejadas de ella.

$$Con = \sum_{i,j=0}^{N-1} P_{i,j}(i-j)^2$$

El rango de esta característica va de 0 al cuadrado del tamaño de la matriz, GLMC. Si el contraste es 0, los niveles de gris son constantes a lo largo de la imagen.

- **Correlación:** devuelve una medida de la dependencia lineal de los niveles de gris de una imagen.

$$Cor = \sum_{i,j=0}^{N-1} P_{i,j} \frac{(i-\mu_i)(j-\mu_j)}{\sqrt{(\sigma_i\sigma_j)}}$$

Donde μ_i y μ_j son la media de los niveles de gris en la ventana. A su vez, σ_i y σ_j representan la desviación típica de los niveles de gris en la ventana. Estos valores coinciden si la matriz es simétrica.

El rango de la correlación va de -1 a 1. Una imagen perfectamente correlada tendrá de valor 1 o -1.

- **Energía (Angular Second Moment, ASM):** Mide la variación de los niveles de gris en la imagen, en la que se valora que haya pocas entradas de gran magnitud.

$$E = \sum_{i,j=0}^{N-1} P_{i,j}^2$$

El rango de esta característica va de 0 a 1. A mayor ASM, mayor uniformidad.

- **Homogeneidad (IDM):** mide la distribución a lo largo de la diagonal, valorando las posiciones cercanas a la misma.

$$H = \sum_{i,j=0}^{N-1} \frac{P_{i,j}}{1+(i-j)^2}$$

El rango de esta característica va de 0 a 1. Para una imagen con una GLMC diagonal, la IDM es 1.

- **Basada en la Transformada de Fourier (S):** Este algoritmo sigue un modelo espectral, que está basado en el análisis de la transformada de Fourier y es útil

para la detección de la periodicidad espacial global de la textura. Lo podemos dividir en dos pasos:

- Calcular el módulo del espectro de Fourier de la subimagen, aplicando la FFT. Para interpretarlo debemos tener en cuenta que los cambios bruscos en los niveles de intensidad, correspondientes a altas frecuencias, están colocadas en los puntos más alejados del origen del espectro, que está situado en el centro. Por otro lado, la intensidad media del recorte, correspondiente a frecuencia 0, se encuentra en el origen del espectro. Como podemos ver en la Figura 4, imágenes más homogéneas tienen menor contenido frecuencial.

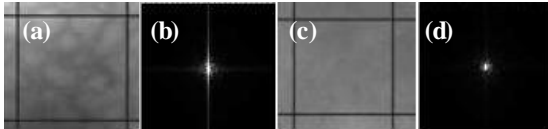


Figura 4. Ejemplos de los módulos de la FFT en dos subimágenes: (a) subimagen con red (b) su módulo FFT (c) subimagen sin red (d) su módulo FFT.

- Para contabilizar de alguna forma este fenómeno, umbralizamos el módulo, para tener en cuenta únicamente aquellos puntos que sean mayores que cierto umbral. A estos puntos se les calcula las varianzas a lo largo de los ejes, s_x^2 y s_y^2 . Finalmente se calcula un valor global (S), que será la característica extraída del espectro:

$$S = \sqrt{s_x^2 + s_y^2}$$

- **Basada en la detección de red (densidad):** Para el cálculo de esta característica hemos adaptado el trabajo de detección de red pigmentada llevada a cabo por Betta et al. [6] para detectar y cuantificar las estructuras presentes en la lesión debidas a cualquiera de los patrones que pretendemos clasificar. Para ello, la imagen de entrada recorre dos caminos: estructural y espectral.
- El método estructural detecta las discontinuidades comparando la imagen monocromática con su versión tras pasar por un filtro de mediana, lo que produce una imagen de muy bajo contraste, a la que le aplicamos matemáticas morfológicas. La operación elegida fue un Top-hat, que se suele emplear para resaltar detalles en zonas de poco contraste. El elemento estructural empleado fue una línea de tamaño 5. En cada iteración, el algoritmo aumenta en 10° el ángulo en el que se aplica. Obtenemos así una imagen de discontinuidades.
- El método espectral está basado en el análisis de Fourier de la imagen, y permite la identificación de las zonas donde existe patrón.

Lo que hacemos es calcular el módulo del espectro de Fourier, y realizamos un filtrado HP, el cual nos elimina las zonas homogéneas. Posteriormente realizamos la IFFT volviendo al dominio espacial, donde umbralizamos la imagen. Esto nos permite

ignorar las discontinuidades aisladas. Obtenemos así una máscara en regiones con patrón.

Finalmente, aplicamos la máscara de regiones con patrón a la imagen de discontinuidades, obteniendo una nube de puntos en zonas donde existe patrón.

Como podemos ver en la Figura 5, hay una clara distinción entre patrones según la densidad de puntos que hay en la imagen, por lo que la característica finalmente extraída es esa densidad de puntos:

$$d = \frac{n}{N}$$

Donde n es el número de puntos blancos en la imagen final y N es el número total de píxeles pertenecientes a la lesión.

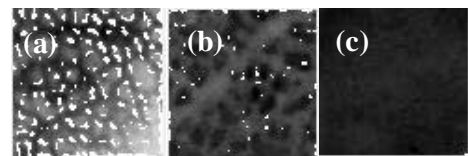


Figura 5. Imagen de discontinuidades en patrón para (a) patrón reticulado; (b) patrón globular; (c) patrón homogéneo.

2.3. Selección de características

La selección de características es una estrategia que busca seleccionar el subconjunto de características óptimo de cara a la clasificación.

El problema es, dado un conjunto de características, escoger un subconjunto del mismo que optimice cierta función criterio, que es la encargada de medir la capacidad discriminante del subconjunto seleccionado. La función criterio empleada es un clasificador que devuelve la tasa de error obtenida al clasificar los datos con el subconjunto de características proporcionado.

Para solucionar este problema hemos elegido un algoritmo de búsqueda exhaustiva conocido como *Sequential Forward Search*, SFS, que, a partir de un conjunto de atributos vacío, y evaluando cada característica con la función criterio, en cada iteración añade al subconjunto la que proporciona al mismo la mayor capacidad discriminante.

2.4. Clasificación

Para la clasificación hemos empleado un algoritmo de *machine learning* conocido como Máquinas de vectores de soporte (*Support Vector Machine*, SVM). Es un método de clasificación supervisada, cuyo objetivo fundamental es aprender a clasificar a partir de un conjunto de muestras de entrenamiento, cuyas clases conocemos *a priori*. La entrada son los vectores de características de n imágenes, $\{x_i | i = 1 \dots n\} \in X \in R^M$, y la salida la clase a la que pertenecen dichas imagen, $\{y_i | i = 1 \dots n\} \in Y \in R$.

El proceso se puede dividir en dos etapas:

- Aprendizaje de la máquina en el que, a partir de un conjunto de entrenamiento, se define el hiperplano óptimo de separación entre las clases como aquel que maximiza el margen del hiperplano.
- Clasificación de muestras de entrada cuyas clases desconocemos.

Una vez clasificada cada subimagen, se clasifica la imagen completa como aquella a la que más subimágenes pertenezcan.

3. Resultados

Para validar los resultados se ha usado un total de 160 imágenes (70 de patrón reticulado, 50 de patrón globular y 40 de patrón homogéneo). De ellas, hemos empleado 30 subimágenes (10 de cada clase) como *training set*, y validamos el método con el total de 160 imágenes.

Las imágenes proceden de la base de datos Interactive Atlas of Dermoscopy de Argenziano et al. [7].

Partiendo del *training set*, el algoritmo SFS nos seleccionó un subconjunto de dos características: Densidad y Energía. El proceso seguido lo tenemos en la Tabla 2, donde consideramos como error de clasificación cualquier imagen clasificada como un patrón que no coincide con el determinado por el dermatólogo. Para facilitar la interpretación, en la Tabla 1 asignamos un número a cada característica.

Característica	Número asignado
Densidad	1
Contraste	2
Correlación	3
Energía	4
Homogeneidad	5
S	6

Tabla 1. Asignación de características.

Característica nueva	Subconjunto	Error de clasificación
1	1	0.299
4	1,4	0.195
3	1,4,3	0.289
5	1,4,3,5	0.289
6	1,4,3,5,6	0.300
2	1,4,3,5,6,2	0.667

Tabla 2. Procedimiento del algoritmo SFS con su error de clasificación.

Hemos obtenido los valores de Sensibilidad, Especificidad, VPP, VPN y Precisión para cada clase, así como el resultado total del clasificador, obtenido como la media ponderada de los resultados de cada una de las clases. Esto se muestra en la Tabla 3.

	Reticulado	Globular	Homogéneo	Total
Sensibilidad	82.86	76	82.5	80.63
Especificidad	91.11	87.27	92.5	90.26
VPP	87.9	73.1	78.57	80.94
VPN	87.23	88.9	94.1	89.47
Precisión	87.5	83.75	90	86.95

Tabla 3. Sensibilidad, Especificidad, PPV, NPV y precisión para cada clase, y total expresado porcentualmente.

4. Conclusiones

El proyecto ha consistido en la realización de un algoritmo de procesamiento de imágenes que estimara parámetros texturales para detectar tres posibles patrones globales: reticulado, globular y homogéneo.

Los resultados, como podemos ver, son satisfactorios. Trabajos anteriores en este ámbito consiguieron una precisión del 86% [5], 85% [6], 86.8% [7], muy en la línea de la obtenida en nuestro estudio: 86.95%.

Estudios futuros se centrarán en la detección y clasificación de todos los tipos de patrones globales, para tener así una visión más global del problema.

5. Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado con los proyectos [DPI2016-81103-R](#), Plan Estatal 2013-2016 Retos, y P11-TIC-7727, Proyecto Excelencia Junta de Andalucía.

Referencias

- [1] Pehamberger H, Steiner A, Wolff K. In vivo epiluminescence microscopy of pigmented skin lesions. I. Pattern analysis of pigmented skin lesions. *American Academy of Dermatology*, vol 17, sup 4, 1987, pp 571-83.
- [2] Serrano C, Acha B. Pattern analysis of dermoscopic images based on Markov random fields. *Pattern Recognit*, vol 42, 2009, pp 1052-7.
- [3] Isasi Gola A, Garcia Zapirain B, Mendez Zorrilla A. Melanomas non-invasive diagnosis application based on the ABCD rule and pattern recognition image processing algorithms. *Comput. Biol. Med.*, vol 41, 2011, pp 742-55.
- [4] Sadeghi M, Lee TK, McLean D, Lui H, Atkins MS. Global pattern analysis and classification of dermoscopic images using textons. *Biomedical Optics and Medical Imaging*. vol 8314, 2012.
- [5] Abbas Q, Celebi ME, Serrano C, Garcia IF, Ma G. Pattern classification of dermoscopy images: a perceptually uniform model. *Pattern Recognit*, vol 46, 2013, pp 86-97.
- [6] Betta G, Di Leo G, Fabbrocini G, Paolillo A, Sommella P. Dermoscopic image-analysis system: estimation of atypical pigment network and atypical vascular pattern. de *MEMEA 06: Proceedings of the IEEE International Workshop on Medical Measurement and Applications*, 2006.
- [7] Soyer HP, Argenziano G, Chimenti S, Menzies S, Pehamberger H, Rabinovitz H. Dermoscopy of pigmented skin lesions. *An atlas based on the Consensus Net Meeting on Dermoscopy 2000, Milan: Edra Medical Publishing and New Media*, 2001 (ISBN: 1-4244-0253-0).

Análisis de la radiación óptica sobre cianobacterias en foto-biorreactores

F. Fanjul-Vélez, L. Arévalo-Díaz, J. L. Arce-Diego

Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Av. de los Castros s/n, 39005 Santander (Cantabria), España, fanjulf@unican.es, arcedj@unican.es

Resumen

La biotecnología es un campo de investigación y trabajo con gran potencialidad. Sus aplicaciones abarcan desde la comprensión de los ciclos vitales, la mejora de procesos agrícolas o ambientales, hasta las aplicaciones de producción biológica o sustancias de interés médico. En el caso particular de las cianobacterias, estos organismos presentan la particularidad de generar oxígeno y biomasa a partir de radiación óptica y CO₂, fundamentalmente, pero también son susceptibles de generar otras sustancias o principios activos de interés. Uno de los aspectos cruciales del proceso está focalizado en el crecimiento óptimo de las cianobacterias. El cultivo de estos organismos se realiza en foto-biorreactores, capaces de lograr condiciones de temperatura, pH, saturación de CO₂ e iluminación óptica controlados. El influjo de la radiación óptica es fundamental en el proceso, y depende del tipo y duración de la iluminación, así como del propio proceso de crecimiento. El propio procedimiento de medida del crecimiento del cultivo de forma dinámica, clave para la delimitación de la eficiencia de producción, suele hacerse también ópticamente. En este trabajo se analiza la distribución de radiación óptica en foto-biorreactores con cianobacterias, con objeto de conocer los parámetros que influyen en el crecimiento de las mismas. Para ello se emplea un modelo de propagación óptica en medios turbios, y se analizan las propiedades ópticas de los cultivos. Los resultados muestran una elevada dependencia de la distribución espacial de radiación en función de la longitud de onda, el radio del haz, el perfil espacial o la irradiancia. Estos resultados permiten elegir los parámetros ópticos e interpretar adecuadamente las medidas de concentración, así como incrementar la eficiencia del proceso.

1. Introducción

Las aplicaciones de la biotecnología están en constante crecimiento en los últimos tiempos. Estas aplicaciones abarcan desde problemas agrícolas, bioquímicos o incluso biomédicos. En particular, existen organismos capaces de producir elementos tan valiosos como combustibles, fármacos, alimentos u oxígeno, entre otros. La consecución de producciones eficientes de este tipo de elementos depende del conocimiento preciso de los procesos biológicos involucrados. Con ello es posible tratar de controlar y fomentar la eficiencia en el proceso de crecimiento y producción de sustancias de interés.

De entre los múltiples tipos de microorganismos susceptibles de aplicabilidad biomédica, las cianobacterias presentan la particularidad de producir oxígeno y biomasa, entre otros, a partir de CO₂ y radiación óptica. Uno de sus aplicaciones potenciales está relacionada con el suministro de elementos básicos para la habitabilidad humana en

entornos hostiles, en esencia alimento y un entorno respirable. El conocimiento de los factores que maximizan la producción de elementos de interés es crucial [1]. Un control adecuado de los mismos derivaría en un incremento de la eficiencia de producción.

Para llevar a cabo el crecimiento de microorganismos y, en consecuencia, la producción de los elementos de interés, se utilizan dispositivos complejos llamados biorreactores [2]. El diseño de estos dispositivos está encaminado a potenciar el crecimiento de microorganismos, cianobacterias en este caso. Para ello presentan la capacidad de suministrar, de forma controlada, todos los elementos que precisan. Estos elementos dependen del tipo particular de microorganismo objetivo. En el caso de las cianobacterias, a los elementos habituales se añade el gran influjo de la radiación óptica, que es esencial para su crecimiento. Es por ello que los dispositivos de crecimiento reciben el nombre de foto-biorreactores. El diseño del foto-biorreactor es fundamental para el proceso de producción. Este diseño lleva aparejada la iluminación óptica, así como el sistema de medida del crecimiento de las cianobacterias. La tipología y características ópticas de las cianobacterias, así como las de la fuente óptica, presentan una gran influencia en los procesos anteriormente mencionados y, en consecuencia, en la eficiencia de producción. Estos términos no suelen considerarse en el diseño de foto-biorreactores actuales.

En este trabajo se lleva a cabo un análisis de la distribución de radiación óptica en un foto-biorreactor con cianobacterias. Esta distribución está relacionada con la estimación del crecimiento del cultivo, así como con la eficacia del crecimiento. La morfología de las cianobacterias presenta una gran influencia en el esparcimiento de la radiación. Se consideran diferentes concentraciones de cianobacterias, así como diferentes perfiles espaciales e irradiancias. Las propiedades ópticas de las cianobacterias definen su influencia en la distribución de radiación óptica. Los resultados contribuirían a un adecuado diseño del foto-biorreactor, para conseguir mejorar la eficacia del proceso, así como a al establecimiento de la relación entre la radiación óptica y la concentración de cianobacterias. Esto permitiría establecer las condiciones óptimas de las fuentes ópticas para maximizar el rendimiento.

2. Parámetros fundamentales de foto-biorreactores

El diseño de los foto-biorreactores conlleva la consideración de un gran número de factores. Tal y como se ha referido anteriormente, uno de los más significativos es la radiación óptica. Existen foto-biorreactores que trabajan con luz solar, pero en este caso el control de la radiación es bastante más complicado. Esto se debe a que es difícil asegurar que la exposición es uniforme en todo el conjunto de microorganismos, con irradiaciones en áreas pequeñas en comparación con el volumen afectado, baja transferencia de masa orgánica y, por ende, ineficiencia. Lo más habitual para cianobacterias es el uso de fuentes de tipo LED o fluorescentes para el crecimiento. La irradiación es fuertemente dependiente de las dimensiones del foto-biorreactor, de la concentración de cianobacterias y de otros factores como la posible agregación laminar del cultivo. Una iluminación inhomogénea hace que algunas cianobacterias detengan su proceso de crecimiento. El espectro de la señal óptica es también altamente relevante en el proceso. Habitualmente la mayor parte de las cianobacterias necesitan iluminaciones en el entorno del visible, entre unos 400 y 700 nm. La magnitud de la irradiación influye también en gran medida en el sistema. Si la irradiación es escasa, el crecimiento se ralentiza, mientras que si su magnitud es demasiado elevada, se puede producir foto-inhibición o foto-destrucción.

Uno de los efectos fundamentales que es necesario tener en cuenta es el del apantallamiento. Se produce como consecuencia de la acumulación de cianobacterias en la superficie del recipiente de cultivo, y en consecuencia la limitación de irradiación a cianobacterias situadas a mayores profundidades [3]. Para solventar este problema, los foto-biorreactores incluyen un sistema de agitación del cultivo. Este procedimiento evita el apantallamiento, pero a costa de inducir una exposición discontinua a la radiación. Dependiendo de sus características, puede ser necesario tener este efecto en cuenta. Las cianobacterias necesitan también de un suministro de CO₂ para su crecimiento. Habitualmente se introduce en el sistema mediante inyección de gas desde la parte inferior de la muestra. El control de la cantidad y concentración de CO₂ es un parámetro de gran relevancia en la eficiencia del proceso de crecimiento. Asimismo el pH de la solución debe ser controlado para generar condiciones de crecimiento apropiadas. En definitiva, un foto-biorreactor apropiado debería proporcionar una distribución óptica reducida, una alta densidad de microorganismos, elevado ciclo de luz-oscuridad, muestras de tamaño reducido, aporte continuo de CO₂, temperatura constante y valor de pH óptimo.

La base de la producción de elementos por parte de las cianobacterias es la fotosíntesis oxigénica [1]. En esta reacción el agua se emplea como donadora de electrones, lo que en combinación con el CO₂ da lugar a la liberación de oxígeno. El proceso fotosintético se puede dividir en dos fases, una dependiente de la radiación óptica y otra independiente. La primera convierte la radiación óptica en energía química. Esta radiación es capturada por pigmentos fotoactivos, particularmente de tipo clorofila y

carotenoide [2]. El suministro de la energía generada a las proteínas se lleva a cabo por medio del fotosistema I (centrado a 700 nm) y del fotosistema II (centrado a 680 nm). Esta fase genera oxígeno. En la fase de oscuridad las nuevas sustancias producidas están implicadas en la generación de compuestos orgánicos, como la glucosa, en el llamado ciclo de Calvin.

La eficiencia fotosintética está controlada mediante la irradiación, la longitud de onda [4,5], la temperatura (un incremento de unos 10°C da como resultado habitual doblar la eficiencia, siempre por debajo del umbral de daño), la concentración de CO₂ y la concentración de oxígeno. Las cianobacterias suelen contener clorofila tipo a. Este hecho les da un color característico, azul o verde, aunque también existen de color rojo. Lo que suele suceder es que la luz visible se transfiere al centro de reacción de la clorofila de tipo a.

Las consideraciones de esta sección ponen de manifiesto la alta relevancia de la radiación óptica sobre las cianobacterias. En particular, la distribución espacial, la irradiación o la longitud de onda influyen enormemente en el proceso.

3. Análisis de la propagación óptica

En esta sección se trata de analizar la propagación óptica en cultivos de cianobacterias. Para ello uno de los aspectos críticos tiene que ver con la variada morfología de las mismas, que van desde organismos unicelulares hasta especímenes filamentosos. Esta variedad tiene una gran repercusión en las propiedades de esparcimiento, principalmente, y en consecuencia en la distribución espacial de radiación.

La distribución espacial de radiación se puede estimar mediante la ecuación del Transporte de la Radiación:

$$\hat{s} \cdot \bar{\nabla} I(r, \hat{s}) = -(\mu_a + \mu_s) I(r, \hat{s}) + \frac{\mu_s}{4\pi} \int_{4\pi} p(\hat{s} \cdot \hat{s}') I(r, \hat{s}') d\Omega' \quad (1)$$

En esta ecuación $I(r, \hat{s})$ es la intensidad específica. La radiación se considera en un punto espacial de vector de posición r , y sigue la dirección del vector \hat{s} . Los eventos de esparcimiento se estiman a partir de la llamada función de fase de esparcimiento $p(\hat{s} \cdot \hat{s}')$. La radiación óptica proviene de la dirección \hat{s}' y se redirecciona según el vector \hat{s} . μ_a y μ_s son los coeficientes de absorción y esparcimiento, respectivamente.

La ecuación del transporte de la radiación puede tratar de resolverse de manera analítica. Los métodos al respecto suelen emplear aproximaciones en casos límite, tales como las que asumen absorción dominante o la aproximación de difusión. La validez de estas aproximaciones depende de la importancia relativa de los eventos de absorción y esparcimiento en un tejido biológico específico. Para evitar esto, existe la posibilidad de intentar resolver numéricamente la ecuación anterior. El análisis numérico se ha empleado en numerosos problemas modelados mediante ecuaciones diferenciales. En el caso concreto de

la ecuación del transporte de la radiación, el método de Monte Carlo posee una demostrada aplicabilidad y precisión, comparado con las soluciones analíticas [6].

El carácter pseudoaleatorio del método se consigue mediante un análisis matemático probabilístico, de tal forma que a partir de números distribuidos uniformemente entre 0 y 1, se llega a distribuciones con la función de densidad requerida. La radiación óptica se considera como una secuencia de fotones, cuyo número modula la exactitud de la solución obtenida. Tras el lanzamiento de un fotón, se calcula su trayectoria, según los eventos de esparcimiento y absorción. En fuentes ópticas es habitual que existe simetría cilíndrica con respecto al eje central del haz, aunque el análisis sea tridimensional. La representación final consiste en un plano con las dimensiones radial y en profundidad, en el interior del tejido biológico. Las dimensiones de la rejilla de trabajo están directamente relacionadas con la carga computacional y la exactitud espacial de la solución.

Con este método se pueden obtener resultados diversos, como por ejemplo la absorción en cada celda espacial de la rejilla. También es posible obtener la fluencia, la reflectancia y la transmitancia en función de la posición radial y el ángulo de observación. Diferentes conformaciones de haz espacial se pueden tener en cuenta mediante operaciones de convolución. Es necesario definir las dimensiones y características ópticas de cada capa del elemento biológico de interés. Los parámetros ópticos son el índice de refracción, n , el coeficiente de absorción, μ_a , el coeficiente de esparcimiento μ_s , y la anisotropía de esparcimiento, g . Este último parámetro también se conoce como el coseno promedio de esparcimiento, y se relaciona con la función de fase de esparcimiento mediante la siguiente expresión:

$$g = \frac{\int_{4\pi} p(\hat{s} \cdot \hat{s}') \hat{s} \cdot \hat{s}' d\Omega'}{\int_{4\pi} p(\hat{s} \cdot \hat{s}') d\Omega'} = \frac{1}{4\pi W_o} \int_{4\pi} p(\hat{s} \cdot \hat{s}') \hat{s} \cdot \hat{s}' d\Omega' = \frac{1}{2W_o} \int_{4\pi} p(\cos\theta) \cos\theta \sin\theta d\theta \quad (2)$$

En esta ecuación el albedo se define como:

$$W_o = \frac{1}{4\pi} \int_{4\pi} p(\hat{s} \cdot \hat{s}') d\Omega' = \frac{\sigma_s}{\sigma_a + \sigma_s} = \frac{\mu_s}{\mu_a + \mu_s} \quad (3)$$

El coseno promedio de esparcimiento indica cuál es la probabilidad de que los fotones sean esparcidos en determinadas direcciones. Así, $g=0$ significa que todas las direcciones son equiprobables. Un parámetro g mayor que 0 manifiesta una tendencia al esparcimiento hacia adelante, y viceversa. El albedo da como resultado una estimación de la importancia relativa entre la absorción y el esparcimiento en la aplicación de interés.

4. Resultados y discusión

La problemática de la distribución de radiación en cultivos de cianobacterias, influye en el diseño del foto-biorreactor construido. Las propiedades ópticas, fundamentalmente coeficientes de absorción y esparcimiento, anisotropía de

esparcimiento e índice de refracción, fueron obtenidas para diferentes concentraciones de *A. cylindrica* [7]. Se consideran diferentes longitudes de onda en el rango visible, debido a la sensibilidad de las cianobacterias en ese rango, en particular 405, 490, 530, 625 y 730 nm. Las concentraciones del análisis son tres, 0.202 Kg/m³, 0.296 Kg/m³ y 0.431 Kg/m³, habituales en cultivos. La distribución espacial del haz se hace variar entre un perfil gaussiano y de tipo top-hat, que se suelen emplear en fuentes ópticas [8]. Los radios de estos haces oscilan entre 0.1 y 0.5 cm, con objeto de provocar variaciones de irradiancia, dentro del rango acorde a las dimensiones de los cultivos. La geometría del foto-biorreactor para diseñar hace que tenga sentido asumir simetría cilíndrica, y un grosor del dispositivo de cultivo de 1 cm.

Con estos datos es posible obtener distribuciones espaciales de radiación. Una distribución de relevancia es la de la radiación que atraviesa el cultivo (transmitida), y que serviría para estimar su concentración, además de la iluminación del proceso fotosintético. La Figura 1 muestra un ejemplo de esta distribución que atraviesa la muestra. En esta figura se puede apreciar la gran influencia que la longitud de onda tiene en la distribución espacial del haz.

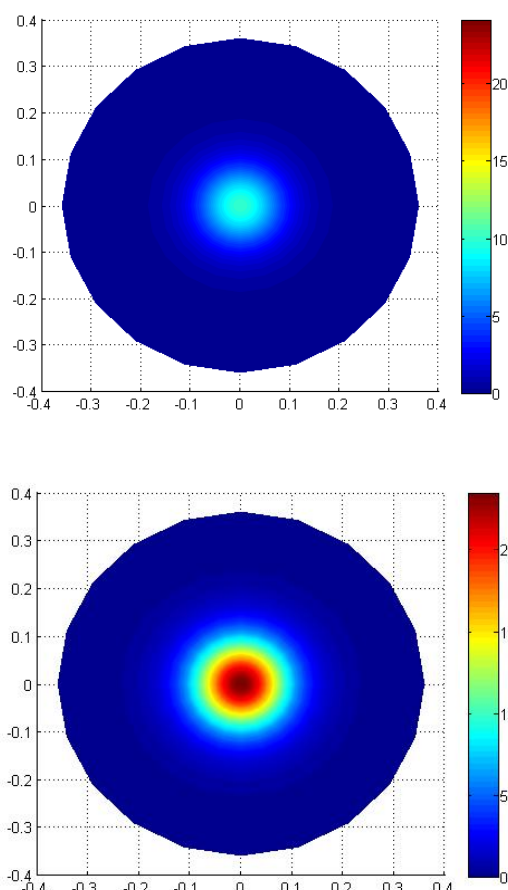


Figura 1. Distribución espacial de la radiación transmitida por el cultivo de cianobacterias en el foto-biorreactor, con una concentración de 0.202 kg/m³, haz gaussiano de 0.1 cm de radio eficaz, y a dos longitudes de onda diferentes: 530 nm (arriba) y 730 nm (abajo).

La absorción óptica es bastante superior a 530 nm, cuando se compara con la que existe a 730 nm. Este hecho origina una potencia inferior recibida en transmisión, lo que podría dificultar la recepción de una señal de potencia suficiente para estimar la concentración. El esparcimiento, sin embargo, es similar a ambas longitudes de onda, con lo que la delimitación espacial de esa radiación se circunscribe a un área no muy diferente.

El parámetro de la fluencia total transmitida en función de la longitud de onda es altamente significativo para el análisis efectuado y, por ende, para el diseño del fotobiorreactor. Para ello es necesario integrar las contribuciones de irradiancia transmitida espacialmente, teniendo en cuenta la geometría del problema. La Figura 2, a modo de ejemplo, muestra esta fluencia en función de la longitud de onda para una concentración de cianobacterias de 0.431 kg/m^3 .

En esta Figura 2 se aprecia cómo existen longitudes de onda de máxima absorción, como por ejemplo a 405 y 625 nm, frente a otras de mínima absorción a 730 nm. Esto está en relación con la afirmación que se realizó en secciones anteriores, relativa a la absorción por parte de las cianobacterias de radiación óptica en el rango del visible, entre 400 y 700 nm. Para una longitud de onda por encima de ese rango, a 730 nm, la absorción decae en gran medida. Bajo el punto de vista de la iluminación del cultivo, una baja absorción implica una baja eficiencia de aporte de energía y, por tanto, baja tasa de generación y crecimiento. Sin embargo, si lo que se considera es un sistema de medida del crecimiento del cultivo, es preferible contar con longitudes de onda de baja absorción, dado que de esta forma se conseguirá un mayor nivel de señal en detección, además de no influir en el crecimiento del cultivo. La tendencia es de absorción descendente con la longitud de onda, con la excepción de la longitud de onda de 625 nm, que supone un punto de inflexión.

5. Conclusiones

Se ha analizado la distribución de radiación óptica sobre diferentes concentraciones de cianobacterias en un fotobiorreactor específico. Se han considerado diferentes perfiles espaciales de haz, radios eficaces y longitudes de onda.

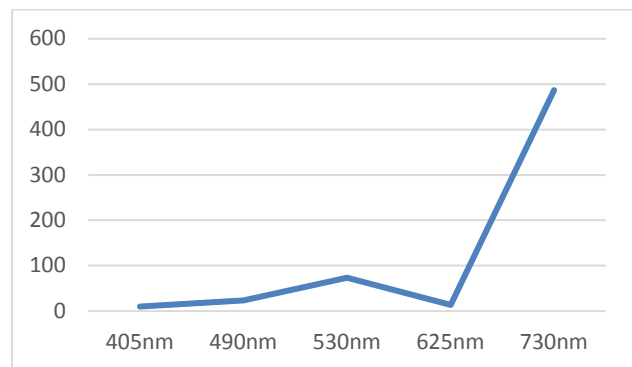


Figura 2. Fluencia óptica total transmitida en función de la longitud de onda para una concentración de 0.431 kg/m^3 .

El análisis se ha llevado a cabo mediante la ecuación del transporte de la radiación, y las propiedades de absorción y esparcimiento de *A. cylindrica*. Los resultados muestran la gran influencia de la absorción con la longitud de onda, así como del esparcimiento, y permiten concluir que una radiación por encima del rango visible, a 730 nm, es preferible para el sistema de monitorización del crecimiento de cianobacterias de este tipo. En términos de iluminación, y como se preveía a partir del proceso fotosintético, es preferible maximizar la absorción con longitudes de onda en el rango visible. Estos resultados contribuyen al adecuado diseño y construcción de fotobiorreactores con monitorización de crecimiento y maximización de eficacia de producción de sustancias.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto del Plan Nacional de I+D+i del Ministerio de Economía y Competitividad de España “Nuevas fases activas en nano-óxidos de metales de transición y tierras raras estabilizadas a alta presión” (MAT2015-69508-P), cofinanciado con fondos FEDER, y por la Fundación San Cándido.

Referencias

- [1] Demmig-Adams B. Carotenoids and photoprotection in plants. A role for the xanthophyll zeaxanthin. *Biochim Biophys Acta*, vol 1020, 1990, pp 1–24 (ISSN: 0006-3002).
- [2] Wojtasiewicz B, Stoń-Egiert, J. Bio-optical characterization of selected cyanobacteria strains present in marine and freshwater ecosystems. *J Appl Phycol*, vol 28(4), 2015, pp 2299–2314 (ISSN: 0921-8971).
- [3] Salas-García I, Fanjul-Vélez, F, Arce-Diego, J. L. Photosensitizer absorption coefficient modelling and necrosis prediction during photodynamic therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol 114, 2012, pp 79-86 (ISSN: 1011-1344).
- [4] Salas-García I, Fanjul-Vélez F, Arce-Diego JL. Superficial radially-resolved fluorescence and three-dimensional photochemical time-dependent model for Photodynamic Therapy. *Optics Letters*, vol 39, 2014, pp 1845-1848 (ISSN: 0146-9592).
- [5] Salas-García I, Fanjul-Vélez F, Arce-Diego J. L. Spatial photosensitizer fluorescence emission predictive analysis for photodynamic therapy monitoring applied to a skin disease. *Optics Communications*, vol 285, 2012, pp 1581-1588 (ISSN: 0030-4018).
- [6] Wang L, Jacques SL, Zheng L. MCML – Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol 47, 1995, pp 131-146 (ISSN: 0169-2607).
- [7] Heng RL, Lee E, Pilon L. Radiation characteristics and optical properties of filamentous cyanobacterium *Anabaena cylindrica*. *J. Opt. Soc. Am. A*, vol 31, 2014, pp 836-845 (ISSN: 1084-7529).
- [8] Fanjul-Vélez F, Salas-García I, Arce-Diego JL. Analysis of laser surgery in non-melanoma skin cancer for optimal tissue removal. *Laser Physics*, vol 25, 2015, pp 025606-1, 8 (ISSN: 1054-660X).

Señales Biomédicas II

Miércoles, 29 de Noviembre

Estudio de Alternativas para Reducir Ruido de Alta Frecuencia en Electrogramas Bipolares de Fibrilación Auricular

M. Martínez-Iniesta¹, J. Ródenas García¹, R. Alcaraz Martínez¹, J.J. Rieta Ibáñez²

¹ Grupo de Investigación en Electrónica, Telecomunicación y Bioingeniería, Dpto. Ingeniería Eléctrica, Electrónica, Automática y Comunicaciones, Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete, España, {Miguel.Martinez, Juan.Rodenas, Raul.Alcaraz}@uclm.es

² BioMIT.org, Dpto. Ingeniería Electrónica, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, jjrieta@upv.es

Resumen

La ablación por catéter es actualmente la terapia más efectiva para el tratamiento de la fibrilación auricular. Este procedimiento médico se basa en gran medida en los sistemas de cartografía cardíaca, proporcionados por los electrogramas intracardiácos (EGM) para estudiar la actividad eléctrica del corazón. Para obtener información clínica precisa de estas señales, la eliminación del ruido y otras perturbaciones, así como la preservación de su forma de onda original, son aspectos a tratar con sumo cuidado. Sin embargo, la forma en la que estas señales deben ser preprocesadas para eliminar con éxito el ruido de alta frecuencia ha recibido muy poca atención en los últimos años. En este trabajo, el filtrado tradicional, aplicado por los equipos de adquisición de estas señales, se compara con dos métodos de eliminación de ruido, basados en la transformada wavelet (WT) y la descomposición de modo empírico (EMD), en un conjunto de 150 EGMs bipolares sintetizados con diferentes niveles de ruido. La señal resultante en cada caso se ha comparado con la original mediante un estimador de correlación, calculado en los dominios del tiempo y la frecuencia. Los resultados muestran alteraciones notablemente más significativas en la forma de onda original para el filtrado tradicional que para el enfoque basado en WT. Consecuentemente, este método es una opción más interesante que el filtrado tradicional para preservar la morfología del EGM bipolar y obtener información electrofisiológica más precisa.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) constituye hoy en día uno de los mayores problemas cardiovasculares en todo el mundo [1]. De hecho, es la arritmia supraventricular más común en la práctica clínica, afectando aproximadamente al 2% de la población adulta [2]. Además, su incidencia y prevalencia se incrementan con la edad, de tal manera que alrededor del 15% de las personas mayores de 80 años la padecen [2]. Sin embargo, los mecanismos fisiopatológicos que desencadenan y perpetúan esta arritmia no son todavía totalmente conocidos [3]. Por esta razón, muchos expertos han indicado que el análisis de la actividad auricular es una prioridad para mejorar el conocimiento actual del incremento de la prevalencia de esta enfermedad [4].

En una amplia variedad de estudios clínicos, la información auricular se obtiene del tórax del paciente. De hecho, el electrocardiograma de superficie (ECG) es actualmente la señal más utilizada para el diagnóstico de

trastornos cardiovasculares [5]. Sin embargo, el electrograma intracardiaco (EGM) ha demostrado una mayor capacidad para reflejar el estado eléctrico del miocardio, por lo que hoy en día es la base de la electrofisiología cardíaca [6]. Aunque durante el procedimiento de electrofisiología común se registran dos tipos diferentes de señales, el EGM bipolar está recibiendo una mayor atención en comparación con la señal unipolar [6]. El EGM bipolar se obtiene restando las grabaciones capturadas por dos electrodos situados próximos en un área específica, con lo que refleja principalmente información sobre su actividad eléctrica local [7].

Sin embargo, al igual que ocurre con el ECG de superficie, el EGM bipolar también suele estar contaminado por ruido y otras perturbaciones. El entorno en el que se realiza la adquisición de estas señales es muy ruidoso desde el punto de vista electromagnético. Son habituales ruidos de alta frecuencia producidos por los equipos de monitorización del paciente, y otros ruidos inducidos por la red eléctrica o por la actividad muscular no cardíaca [8]. Por lo tanto, un preprocesado adecuado del EGM, que elimine el ruido sin alterar la morfología, es un requisito indispensable para el análisis posterior del mismo [8]. A este respecto, algunos trabajos anteriores han determinado que la relación señal-ruido (SNR) mínima necesaria para poder detectar pequeños cambios en el EGM es de 20 dB [8]. Sin embargo, este aspecto no ha recibido mucha atención en la literatura científica y, por lo general, la señal bipolar sólo es filtrada paso banda (de forma hardware) entre 30 y 300 Hz durante su adquisición, incluso cuando se ha probado que este preprocesado modifica notablemente su amplitud, ritmo y morfología [7]. En este contexto, el objetivo principal del presente trabajo es analizar si dos métodos avanzados de eliminación de ruido de alta frecuencia, que han demostrado gran eficiencia sobre el ECG, son también capaces de obtener EGMs bipolares más limpios y menos alterados morfológicamente que el filtrado tradicional descrito anteriormente.

2. Materiales

Para validar los algoritmos de eliminación de ruido propuestos, se utilizó un conjunto de EGMs bipolares sintéticos, ya que estas señales permiten cuantificar con precisión la reducción de ruido obtenida y cómo se preserva la forma de onda original. Para sintetizar estas

señales de una forma realista se utilizó la metodología propuesta por Oesterlin et al. [9]. De esta forma, se generaron 150 EGMs bipolares, de 10 segundos de duración, completamente limpios (referidos a lo largo del texto como $x(n)$).

Para obtener las señales ruidosas, se añadió un ruido de alta frecuencia a las señales sintetizadas anteriormente. Esta interferencia se generó mediante un modelado autoregresivo de los intervalos entre activaciones auriculares de las señales reales, tal y como se describe en [10] y se normalizó en amplitud para sintetizar EGMs bipolares con valores de SNR de 25, 20, 15, 10 y 5 dB. A modo de ejemplo, la Figura 1 muestra un EGM bipolar sintético típico con diferentes niveles de ruido.

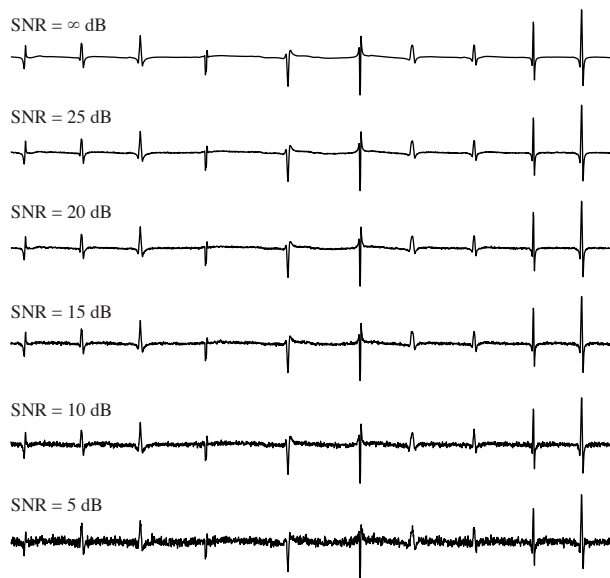


Figura 1. Registro de un EGM bipolar típico al que se han añadido diferentes niveles de ruido.

3. Método

Las siguientes subsecciones describen el filtrado tradicional aplicado al EGM bipolar durante su adquisición y cómo dos métodos efectivos de eliminación de ruido de alta frecuencia en el ECG son adaptados para trabajar con esta señal intracardiaca. Los algoritmos propuestos están basados en el procesamiento de la señal original mediante la transformada wavelet (WT) y la descomposición de modo empírico (EMD).

3.1. Filtrado tradicional del EGM bipolar

Con el objetivo de mantener un equilibrio entre la reducción del ruido y la mínima distorsión de la morfología del registro, el EGM bipolar es típicamente filtrado paso bajo con una frecuencia de corte alrededor de 300 Hz [7]. Además, con el objetivo de reducir la contaminación ventricular lejana, la señal es también filtrada paso alto con una frecuencia de corte de aproximadamente 30 Hz [11]. Sin embargo, este último filtrado también reduce considerablemente la componente auricular principal, que suele estar situada entre 3 y 12 Hz. Claramente, este filtrado distorsiona la morfología del EGM y reduce su amplitud, haciendo el registro más complejo y fraccionado

[11]. No obstante, varios estudios clínicos han demostrado que información útil todavía permanece en la señal [7]. Para reproducir este filtrado tradicional llevado a cabo por los equipos de adquisición y aplicarlo a las señales sintetizadas, se utilizó un filtro bidireccional Butterworth de segundo orden con un ancho de banda entre 30 y 300Hz.

3.2. Reducción de ruido basado en Transformada Wavelet

WT se ha utilizado ampliamente para la eliminación de ruido en el ECG debido a su capacidad para tratar con señales no estacionarias [12]. Esta transformada descompone la señal en diferentes escalas de tiempo y frecuencia, las cuales son reescaladas y umbralizadas para eliminar el ruido [13]. El procesamiento de la señal mediante la WT discreta es muy común en aplicaciones biomédicas, ya que puede implementarse fácilmente mediante un banco de filtros IIR paso bajo y paso alto seguido por etapas de diezmado [13]. Hay que indicar que esta transformada se aplicó en el presente trabajo con una función wavelet Coiflet de segundo orden, para descomponer el EGM bipolar en 8 niveles.

Entonces, los coeficientes wavelet obtenidos se rescalan utilizando la desviación estándar del ruido, el cual se estimó a partir de la mediana del nivel de frecuencia más alta mediante el método descrito en [14]. Posteriormente, se les aplicó una umbralización suave, utilizando el estimador de riesgo imparcial de Stein para calcular el valor umbral [14]. Finalmente, estos coeficientes se utilizaron para reconstruir la señal sin ruido.

3.3. Reducción de ruido basado en EMD

En comparación con la WT, la principal ventaja del método EMD es que no necesita ninguna información *a priori* para descomponer una señal. En concreto, esta herramienta descompone la señal original en una suma de señales oscilatorias, denominadas funciones de modo intrínseco (IMF), que van desde las frecuencias más altas hasta las más bajas. Por lo tanto, EMD también puede ser considerado como un banco de filtros, pero sin una frecuencia de corte predefinida [15]. Además, EMD es una herramienta muy interesante para tratar con señales no lineales y no estacionarias y, de hecho, se ha utilizado ampliamente para la eliminación de ruido en numerosas señales fisiológicas, incluyendo, por supuesto, los registros cardiovasculares como el ECG [16]. Considerando que las IMFs de los niveles más bajos presentan las componentes de mayor frecuencia y viceversa, algunos trabajos previos han demostrado que el ruido de alta frecuencia se puede eliminar con éxito del ECG descartando las primeras IMFs [17]. En este estudio, para eliminar el ruido en el EGM bipolar, se han descartado las dos primeras IMFs.

3.4. Evaluación de la reducción de ruido

Para evaluar la reducción de ruido y la alteración de la morfología del EGM llevada a cabo por los algoritmos de reducción de ruido propuestos, la señal resultante (referida como $\hat{x}(n)$), se comparó con la señal original en términos de correlación. Para realizar una comparación lo más robusta posible, además de la correlación entre las señales $x(n)$ y $\hat{x}(n)$, también se analizó por el contenido espectral

de ambas. Para ello, se realizó la transformación espectral de estas señales mediante el periodograma de Welch con una resolución de 0.1 Hz. Debido a que el índice de correlación de Pearson clásico no tiene en cuenta las diferencias de amplitud entre las señales, se utilizó otro estimador de correlación con el fin de obtener una comparación morfológica más precisa [18]. Esta métrica, referida como SCI (adaptative signed correlation), se calcula como sigue para una señal de N muestras de longitud

$$\text{SCI}(x(n), \hat{x}(n)) = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N x(k) \otimes \hat{x}(k), \quad (1)$$

donde \otimes se define como

$$x(k) \otimes \hat{x}(k) = \begin{cases} 1 & \text{si } |x(n) - \hat{x}(n)| \leq \beta, \\ -1 & \text{si } |x(n) - \hat{x}(n)| > \beta. \end{cases} \quad (2)$$

El valor del umbral β se seleccionó experimentalmente como el 5% de la desviación estándar de $x(n)$.

4. Resultados

La Tabla 1 resume los valores medios de SCI obtenidos, tanto en el dominio del tiempo como en el de la frecuencia, para cada uno de los valores de SNR analizados. Como se esperaba, los tres métodos proporcionan una morfología temporal y un contenido espectral más alterados a medida que la SNR disminuye. Sin embargo, el algoritmo basado en WT obtuvo los EGMs más limpios e inalterados en comparación con los otros métodos de reducción de ruido. Es interesante destacar que su rendimiento mejoró notablemente el filtrado tradicional para cualquier SNR, pero especialmente para niveles moderados y altos de ruido de alta frecuencia. De manera similar, el algoritmo basado en EMD también proporcionó resultados peores que el método basado en WT, aunque notablemente mejor que el filtrado tradicional. La Figura 2 muestra gráficamente el comportamiento de los tres métodos para EGMs bipolares típicos con SNR de 20 y 10 dB.

5. Discusión

El desarrollo de nuevos algoritmos capaces de reducir el ruido de alta frecuencia en el EGM bipolar y, al mismo tiempo, preservar su forma de onda original, sigue siendo un reto sin resolver. De hecho, los resultados obtenidos han demostrado que el filtrado tradicional no es suficientemente eficaz para eliminar niveles moderados de

ruido, además de modificar tanto la morfología como la distribución espectral de la señal. Por ejemplo, incluso para el caso más favorable de una SNR de 25 dB, el filtrado tradicional sólo alcanza una correlación temporal de aproximadamente el 50%. Este resultado podría estar justificado por la eliminación de las componentes auriculares significativas y de alta amplitud situadas entre 1 y 30 Hz.

Por el contrario, los algoritmos propuestos basados en WT y EMD son capaces de obtener EGMs bipolares con morfología y contenido espectral menos alterados, incluso para el nivel más alto de ruido (es decir, un valor SNR de 5 dB). Sin embargo, hay que señalar que el algoritmo basado en WT proporciona las señales más limpias y menos distorsionadas. Por ejemplo, para altos niveles de ruido (10 dB), los valores de SCI en los dominios de tiempo y frecuencia fueron superiores al 84% y 99%, respectivamente. Además, aunque el método basado en EMD ha mejorado notablemente el rendimiento de filtrado tradicional, proporcionó señales más ruidosas que el basado en WT. Este resultado podría explicarse por el hecho de que las IMF de baja frecuencia pueden todavía contener información de las activaciones auriculares, la cual es descartada como ruido. Otra desventaja relevante del método basado en EMD es su alta carga computacional comparada con el método basado en WT.

Desde un punto de vista clínico, la reducción del ruido de alta frecuencia y la preservación de la morfología del EGM bipolar es un objetivo primordial, ya que en otro caso el vínculo entre las características morfológicas del EGM y los mecanismos electrofisiológicos subyacentes a la FA podría ser enmascarado. Además, si el EGM se procesa muy agresivamente, puede perderse información interesante y el análisis posterior podría quedar distorsionado. Por consiguiente, sólo se puede obtener un análisis realista y fehaciente cuando el preprocedo es capaz de preservar la morfología original del EGM. En consecuencia, los resultados obtenidos muestran la necesidad de desarrollar métodos de preprocesado para el EGM bipolar más precisos. De este modo, los resultados de los estudios electrofisiológicos podrían conducir a resultados menos conflictivos y más concluyentes que hasta la fecha.

Método	SCI (%)	SNR (dB)				
		25	20	15	10	5
Filtrado tradicional	Tiempo	50.13 ± 18.25	48.79 ± 18.09	45.09 ± 17.42	37.90 ± 15.40	28.61 ± 11.61
	Frecuencia	93.70 ± 1.18	93.68 ± 1.19	93.64 ± 1.21	92.21 ± 2.50	84.17 ± 7.02
Basado en EMD	Tiempo	92.65 ± 1.95	92.00 ± 3.31	81.63 ± 9.56	60.55 ± 13.62	39.13 ± 11.76
	Frecuencia	94.55 ± 3.96	95.11 ± 3.51	96.79 ± 2.69	96.51 ± 2.19	91.12 ± 4.98
Basado en WT	Tiempo	99.61 ± 0.38	97.95 ± 1.44	93.81 ± 3.71	84.47 ± 8.35	70.31 ± 12.79
	Frecuencia	99.99 ± 0.01	99.99 ± 0.02	99.98 ± 0.02	99.52 ± 0.54	96.96 ± 2.37

Tabla 1. Resultados de comparación de los algoritmos de eliminación de ruido analizados, en los dominios del tiempo y la frecuencia, para el índice SCI considerando distintos niveles de ruido añadido.

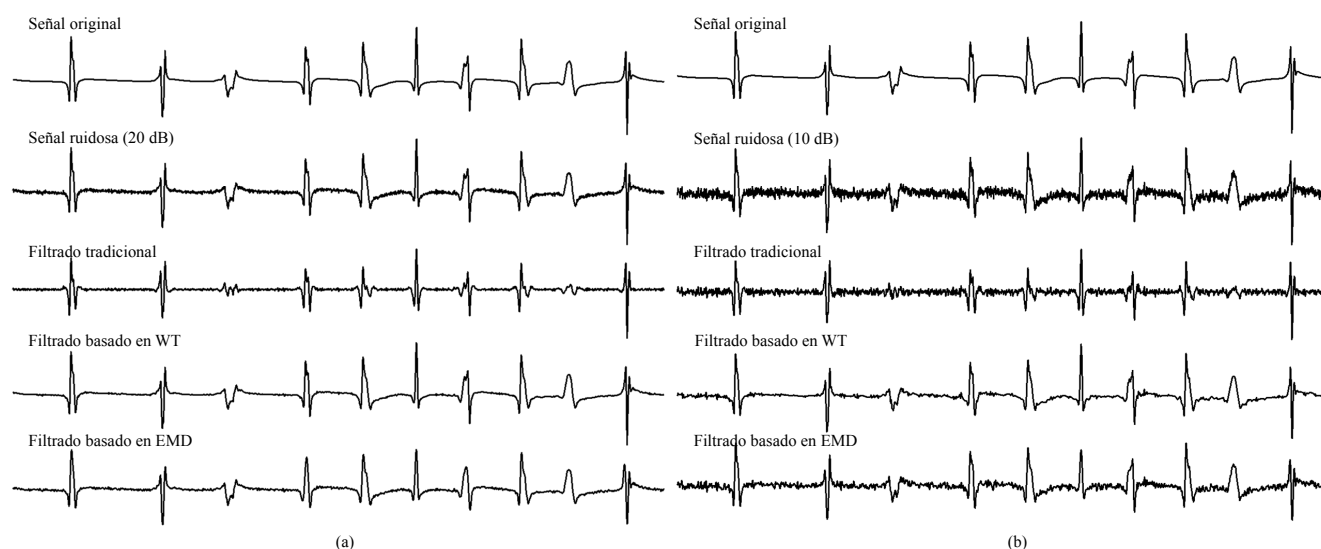


Figura 2. Ejemplos de la respuesta de los algoritmos de reducción de ruido para EGMs bipolares con SNR de 20 dB (a) y 10 dB (b).

6. Conclusiones

El algoritmo propuesto de reducción del ruido basado en la transformada Wavelet ha demostrado una mayor capacidad para reducir el ruido de alta frecuencia y preservar la morfología original del EGM bipolar que el filtrado tradicional. En consecuencia, para obtener estudios electrofisiológicos más precisos, este método debería reemplazar la forma habitual de preprocesar los electrogramas bipolares.

Agradecimientos

Trabajo financiado por los proyectos TEC2014-52250-R y DPI2017-83952-C3 MINECO/AEI/FEDER, UE.

Referencias

- [1] Potter BJ, Le Lorier J. Taking the pulse of atrial fibrillation. *Lancet* 2015;386(9989):113–5.
- [2] Zoni-Berisso M, Lercari F, Carazza T, et al. Epidemiology of atrial fibrillation: European perspective. *Clin Epidemiol* 2014;6:213–20.
- [3] Schotten U, Dobrev D, Platonov PG, et al. Current controversies in determining the main mechanisms of atrial fibrillation. *J Intern Med* 2016;279(5):428–38.
- [4] Heijman J, Algalarrondo V, Voigt N, et al. The value of basic research insights into atrial fibrillation mechanisms as a guide to therapeutic innovation: a critical analysis. *Cardiovasc Res* 2016;109(4):467–79.
- [5] Tso C, Currie GM, Gilmore D, Kiat H. Electrocardiography: A technologist's guide to interpretation. *J Nucl Med Technol* Dec 2015;43(4):247–52.
- [6] de Bakker JMT, Wittkampf FHM. The pathophysiologic basis of fractionated and complex electrograms and the impact of recording techniques on their detection and interpretation. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2010;3(2):204–13.
- [7] Stevenson WG, Soejima K. Recording techniques for clinical electrophysiology. *J Cardiovasc Electrophysiol* 2005;16(9):1017–22.
- [8] Venkatachalam KL, Herbrandson JE, Asirvatham SJ. Signals and signal processing for the electrophysiologist: Part I: electrogram acquisition. *Circ Arrhythm Electrophysiol* 2011;4(6):965–73.
- [9] Oesterlein TG, Lenis G, Rudolph DT, et al. Removing ventricular far-field signals in intracardiac electrograms during stable atrial tachycardia using the periodic component analysis. *J Electrocardiol* 2015;48(2):171–80.
- [10] Corino VDA, Rivolta MW, Sassi R, et al. Ventricular activity cancellation in electrograms during atrial fibrillation with constraints on residuals' power. *Med Eng Phys* 2013;35(12):1770–7.
- [11] Issa ZF, Miller JW, Zipes DP. Clinical arrhythmology and electrophysiology: a comparison to Braunwald's heart disease. (Chapter 4). Elsevier, 2012, 2nd edition.
- [12] Singh BN, Tiwari AK. Optimal selection of wavelet basis function applied to ECG signal denoising. *Digital Signal Processing* 2006;16(275–287).
- [13] Addison PS. Wavelet transforms and the ECG: a review. *Physiol Meas* 2005;26(5):R155–99.
- [14] Donoho D, Johnstone I. Ideal spatial adaptation by wavelet shrinkage. *Biometrika* 1994;81:425–455.
- [15] Flandrin P, Rilling G, Gonçalves P. Empirical mode decomposition as a filter bank. *IEE Signal Processing Letter* 2004;11(112–114).
- [16] Blanco-Velasco M, Weng B, Barner KE. ECG signal denoising and baseline wander correction based on the empirical mode decomposition. *Comput Biol Med* Jan 2008; 38(1):1–13.
- [17] Chang KM. Ensemble empirical mode decomposition for high frequency ECG noise reduction. *Biomed Tech (Berl)* 2010;55(4):193–201.
- [18] Lian J, Garner G, Muessing D, et al. A simple method to quantify the morphological similarity between signals. *Signal Processing* 2010;90:684–688.

Estudio de la onda P en registros electrocardiográficos de pacientes con fibrilación auricular paroxística antes y después del aislamiento de las venas pulmonares

N. Ortigosa¹, O. Cano²

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

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

Resumen

En este artículo se presenta un estudio en el que se analizan algunos de los marcadores más utilizados en la interpretación del electrocardiograma de superficie para determinar si existen variaciones significativas antes y después del aislamiento de las venas pulmonares en pacientes aquejados de fibrilación auricular.

La cohorte del estudio está compuesta de 12 pacientes aquejados de fibrilación auricular que fueron sometidos a una ablación por catéter. Durante la totalidad de la duración de la intervención, se realizó el registro simultáneo tanto del electrocardiograma de superficie como de los registros intracavitarios. En el análisis se han incluido diversos marcadores electrocardiográficos calculados sobre las ondas P de la derivación VI antes y después del procedimiento de ablación, como son la amplitud media de onda, duración, kurtosis, asimetría o dispersión.

Los resultados del presente estudio revelan que tanto la duración de la onda P como los índices de dispersión y kurtosis resultaron ser significativamente menores cuando las venas pulmonares se encontraron aisladas, resultando diferenciadores en un 91% de los pacientes. Estos resultados preliminares pueden representar una vía de identificación no invasiva de la reconexión venosa pulmonar espontánea, que es el principal motivo de recurrencias en la fibrilación auricular.

1. Introducción

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

El tratamiento de la FA incluye desde medicación antiarrítmica a terapias no farmacológicas, como es el aislamiento de las venas pulmonares mediante la utilización de la ablación por catéter. La eficacia de cada tratamiento depende fundamentalmente de la clasificación clínica de la arritmia [3]. En particular, la ablación por catéter presenta unas tasas de éxito de alrededor del 80% de los pacientes libres de arritmia si éstos presentan FA paroxística (definida como aquella en la que los episodios se autolimitan en el tiempo, finalizando en periodos inferiores a 7 días [1]).

El aislamiento de las venas pulmonares ha sido objeto de estudio por muchas referencias recientemente, ya que la reconexión venosa pulmonar temprana es un indicador de recurrencias de la arritmia posteriores a un procedimiento de ablación por catéter [4,5]. Por ejemplo, las bases anatómicas por las que se produce dicha reconexión han sido estudiadas por McGarry y Narayan en la referencia [6], mientras que la importancia de encontrar predictores para determinar los pacientes adecuados para ser sometidos a ablaciones por catéter o radiofrecuencia ha sido estudiada en las referencias [6-8].

2. Materiales

En este estudio se han utilizado las señales electrocardiográficas correspondientes a 12 pacientes consecutivos no seleccionados aquejados de fibrilación auricular paroxística que fueron sometidos a ablación por catéter.

Cada paciente fue monitorizado tanto mediante el electrocardiograma de superficie como con registros intracavitarios durante todo el proceso de ablación, tomando para el estudio tramos de señal en ritmo sinusal anteriores y posteriores al procedimiento de ablación.

3. Métodos

3.1. Preprocesado de señal

En primer lugar se filtró la señal electrocardiográfica para eliminar el ruido base mediante splines cúbicos [9], así como también se realizó un filtrado tipo Notch a 50Hz con el objetivo de eliminar el ruido de red.

A continuación, se realizó la delineación de las ondas P de tramos de un minuto de duración de la señal previos a la realización de la ablación por catéter, así como un tramo de un minuto de duración una vez el procedimiento había finalizado.

3.2. Extracción de características

Una vez se habían delineado las ondas P en la derivación V1 del electrocardiograma de superficie, varias

características fueron obtenidas sobre ellas, entre otras, la amplitud media de dichas ondas y su duración.

Otras características morfológicas calculadas sobre dichas ondas fueron la kurtosis y la asimetría.

La kurtosis es una medida de la forma que trata de definir el grado de concentración que presentan los valores de una variable con respecto a la zona central. Se define como

$$kurtosis = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \mu)^4 / N}{\sigma^4}$$

donde μ es la media, σ es la desviación estándar y N es el número de muestras del tramo de señal.

La kurtosis para una distribución normal estándar es 3, de forma que aquellas variables con menor concentración respecto a la media presentan valores superiores a 3 mientras que las variables con valores de kurtosis inferiores a 3 tienen distribuciones más concentradas en torno a la media.

Como medida de la asimetría tomamos la indicada a continuación

$$asimetría = \frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \mu)^3 / N}{\sigma^3}$$

Donde se obtienen valores negativos si los datos se distribuyen a la izquierda de la media, o bien valores positivos del índice de asimetría si los valores están mayoritariamente distribuidos a la parte derecha de la media.

Este índice de asimetría tomará valor cero para una distribución normal estándar. Asimismo, dicho índice tomará valores positivos o negativos para distribuciones sesgadas hacia la derecha o la izquierda de la media, respectivamente.

Por otra parte, también se han calculado medidas de dispersión de los datos. El índice de dispersión de la amplitud (IDA) determina la variabilidad de las amplitudes de las ondas P a lo largo del registro adquirido. Queda definido como

$$IDA_i = \frac{\max_i \{ \max\{A_j\} - \min\{A_j\} \}}{\max_{i,j} \{A\}}$$

donde A_j hace referencia a la amplitud de la j -ésima onda P del paciente i -ésimo.

La dispersión de la duración de las ondas P también se incluyó en el estudio. Fue definida como la diferencia entre las duraciones máxima y mínima de las ondas P del paciente i -ésimo:

$$dispersion_i = \max_i \{dur\} - \min_i \{dur\}$$

donde dur es la duración de la onda P.

Una vez las características a analizar fueron calculadas, se procedió a realizar el test estadístico de Wilcoxon entre los dos conjuntos de datos (antes y después de realizar el aislamiento de las venas pulmonares) para estudiar si los resultados obtenidos fueron significativos.

4. Resultados

La Tabla 1 muestra los resultados obtenidos expresados en términos de mediana y rango intercuartil para las diferentes características que se han indicado en la sección 3. Los boxplot correspondientes a dichas características se han incluido en la Figura 1.

De igual modo, los resultados del análisis estadístico realizado se han indicado en la Tabla 2, donde se han resaltado aquellas características que revelaron ser estadísticamente significativas.

Característica	Antes	Después
Amplitud media (μV)	784 (582-928)	845 (518-917)
Duración (ms)	140 (115-162)	126 (103-151) *
Kurtosis	1.73 (1.69-1.79)	1.63 (1.59-1.68) *
Asimetría	0.25 (0.01-0.33)	0.18 (0.05-0.22)
IDA	0.58 (0.45-0.67)	0.50 (0.31-0.55)*
Dispersión (ms)	46 (32-59)	45 (32-62)

Tabla 1. Resultados obtenidos para los 12 pacientes incluidos en el estudio presentado, diferenciando las características extraídas antes y después del aislamiento de las venas pulmonares. Las diferencias significativas encontradas se han indicado mediante *.

Característica	p-valor
Amplitud media (μV)	0.8501
Duración (ms)	0.0342
Kurtosis	0.0010
Asimetría	0.3394
IDA	0.0093
Dispersión (ms)	0.5554

Tabla 2. P-valores correspondientes al test estadístico de Wilcoxon para las características calculadas indicadas en la Tabla 1. Las características estadísticamente significativas se indican en negrita.

A la vista de los resultados de las tablas anteriores, podemos observar que la amplitud media de las ondas P así como la medida de su asimetría no fueron capaces de proporcionar información suficiente para ser características diferenciadoras.

Por otra parte, la duración de las ondas P sí resultó ser significativamente mayor en los registros anteriores a la ablación por catéter. Estos resultados obtenidos van en línea con los presentados por Shrestha en la referencia [10], donde se indicaba que se producía una reducción significativa de la parte negativa de la onda P en la

derivación V1, así como un incremento de la duración de la parte positiva de la onda P.

Además, la medida de kurtosis también resultó ser estadísticamente menor una vez se ha finalizado el procedimiento de ablación por catéter. De hecho, este resultado se encuentra relacionado con que el índice de dispersión de las amplitudes (DIA) sea también menor en ese momento.

Por otra parte, estas dos diferencias son estadísticamente muy significativas (Tabla 2), resultando ser diferenciadoras por sí mismas con precisiones alrededor del 91% y 83% de los casos.

En las Figuras 2 y 3 se pueden observar asimismo las diferencias en la dispersión de las ondas P antes y después del procedimiento de ablación, encontrándose una reducción de dicha dispersión una vez finalizado el procedimiento.

Estos resultados son coherentes también con estudios previos como el presentado en [11], en el que se comparaban registros electrocardiográficos de dos grupos de pacientes: el primero, con pacientes con FA persistente, y el segundo, un grupo con pacientes de control normal. Los pacientes del grupo de control presentaban menor fragmentación de la señal y mucha menor variabilidad en las ondas P frente a aquellos que sufrían FA persistente.

Este último hecho puede ser explicado debido a la desorganización en la actividad auricular presente en aquellos sujetos aquejados de FA, que crece a medida que la arritmia va progresando.

5. Conclusiones

En este trabajo se ha presentado un estudio cuyo objetivo era analizar las diferencias presentes en el electrocardiograma de superficie antes y después de un procedimiento de ablación por catéter en pacientes aquejados de fibrilación auricular paroxística.

Se ha mostrado que la duración de las ondas P, así como los índices de dispersión de la amplitud de dichas ondas y la kurtosis de la distribución de los valores de las mismas son significativamente menores una vez finaliza el procedimiento de ablación, es decir, tras aislar eléctricamente las venas pulmonares.

El trabajo futuro se centrará en ampliar la cohorte de pacientes incluidos en el estudio, así como en el análisis de características adicionales capaces de proporcionar más información de cara a la predicción del éxito del procedimiento ablativo en el mantenimiento del ritmo sinusal.

Referencias

[1] Wann L, Curtis A, January C, Ellenbogen K, Lowe J, Estes N, Ezekowitz M, Slotwiner D, Jackman W, Stevenson W, C.M Tracy; 2011 Writing Group Members VF, Ryd'en L, Cannom D, Heuzey JL, Crijns H, Lowe J, Curtis A, Olsson

S, Ellenbogen K, Prystowsky E, Halperin J, Tamargo J, Kay G, L.Wann; 2006 Writing CommitteeMembers AJ, Anderson J, Albert N, Hochman J, Buller C, Kushner F, Creager M, Ohman E, Ettinger S, Stevenson W, Guyton R, Tarkington L, Halperin J, Yancy C. 2011 ACCF/AHA/HRS focused update on the management of patients with atrial fibrillation (updating the 2006 guideline): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*, vol 123, sup. 1, 2011, pp 104-123.

- [2] January C, Wann L, Alpert J, Calkins H, Cigarroa J, Cleveland J, Conti J, Ellinor P, Ezekowitz M, Field M, Murray K, Sacco R, Stevenson W, Tchou P, Tracy C, Yancy C. 2014 AHA/ACC/HRS Guideline for the Management of Patients With Atrial Fibrillation. A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Heart Rhythm Society. *J Am Coll Cardiol*, vol 64, sup. 21, 2014, pp e1-e76.
- [3] Melichercik J. New frontiers in the evaluation and treatment of patients with atrial fibrillation. *Biomed Tech*, vol 57, sup 1, 2012.
- [4] Anter E, Contreras-Valdes F, Shvilkin A, Tschabrunn C, Josephson M. Acute pulmonary vein reconnection is a predictor of atrial fibrillation recurrence following pulmonary vein isolation. *J Interv Card Electrophysiol*, vol 39, sup. 3, April 2014, pp 225–232.
- [5] Efremidis M, Letsas L, Giannopoulos G, Lioni L, Vlachos K, Asvestas D, Karlis D, Kareliotis V, Geladari H. Early pulmonary vein reconnection as a predictor of left atrial ablation outcomes for paroxysmal atrial fibrillation. *Europace*, vol 17, sup. 1, May 2015, pp 741–746.
- [6] McGarry T, Narayan S. The Anatomical Basis of Pulmonary Vein Reconnection After Ablation for Atrial Fibrillation. *J Am Coll Cardiol*, vol 59, sup. 10, March 2012, pp. 939–941.
- [7] Epicoco G, Sorgente A. Predictors of Atrial Fibrillation Recurrence after Catheter Ablation. *J Atr Fibrillation*, vol 6, sup. 5, 2014, pp. 1016.
- [8] Balk EM, Garlitski AC, Alsheikh-Ali AA, Terasawa T, Chung M, Ip S. Predictors of atrial fibrillation recurrence after radiofrequency catheter ablation: a systematic review. *J Cardiovasc Electrophysiol*, vol 21, sup. 11, November 2010, pp. 1208–1216.
- [9] Meyer CR, Keiser HN. Electrocardiogram baseline noise estimation and removal using cubic splines and statespace computation techniques. *Comput Biomed Res*, vol 10, 1977, pp. 459–470.
- [10] Shrestha S, Chen O, Greene M, John J, Greenberg Y, Yangd F. Change in P wave morphology after convergent atrial fibrillation ablation. *Indian Pacing Electrophysiol J*, vol 16, sup. 1, 2016, pp. 3–7.
- [11] Censi F, Corazza I, Reggiani E, Calcagnini G, Mattei E, Triventi M, Boriani G. P-wave Variability and Atrial Fibrillation. *Scientific Reports*, vol 6, May 2016, pp. 1–7.

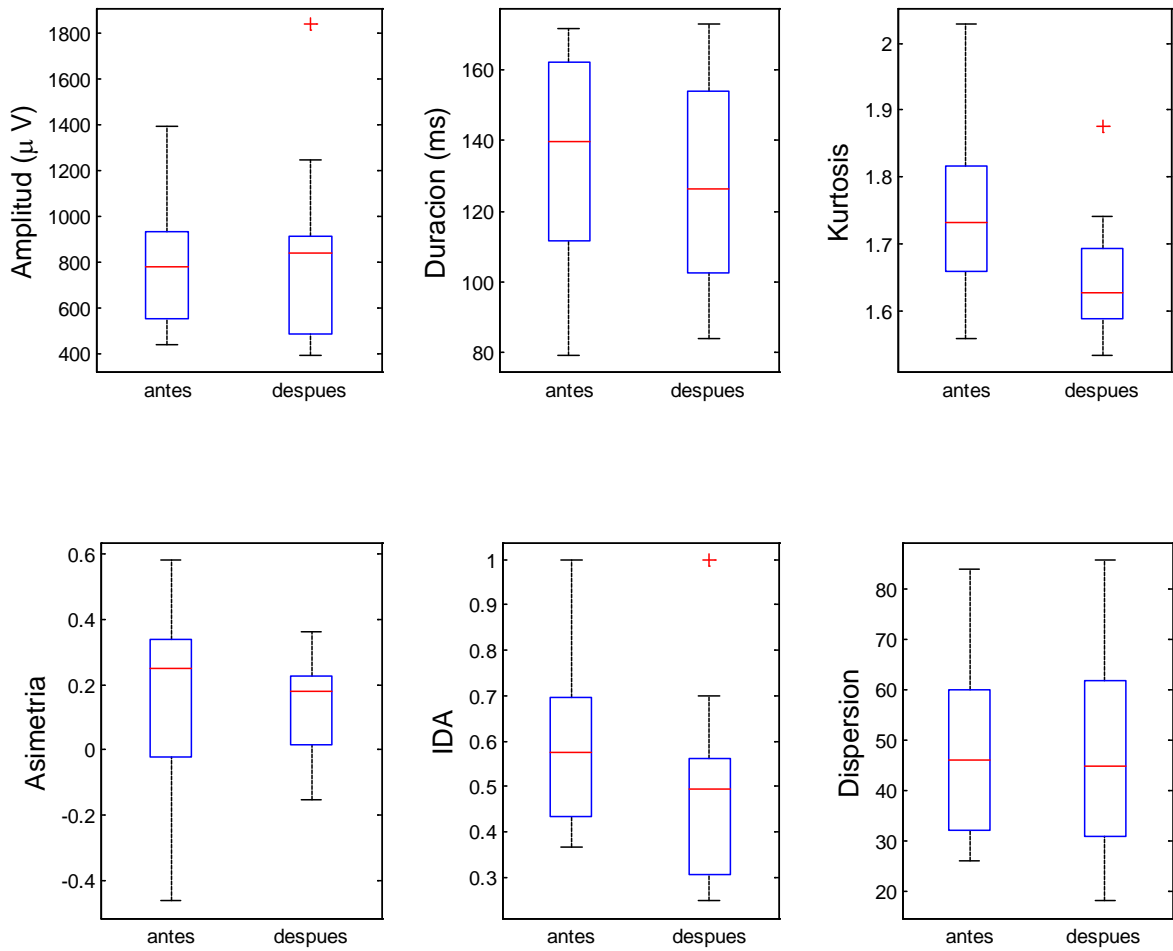


Figura 1. Boxplot de las características extraídas antes y después de la ablación por catéter.

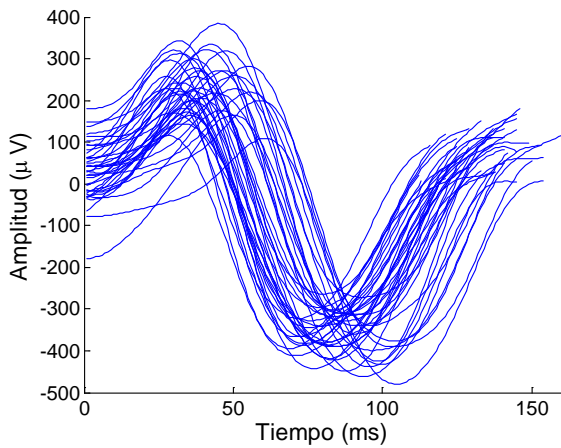


Figura 2. Ondas P extraídas del registro de un paciente antes del procedimiento de ablación.

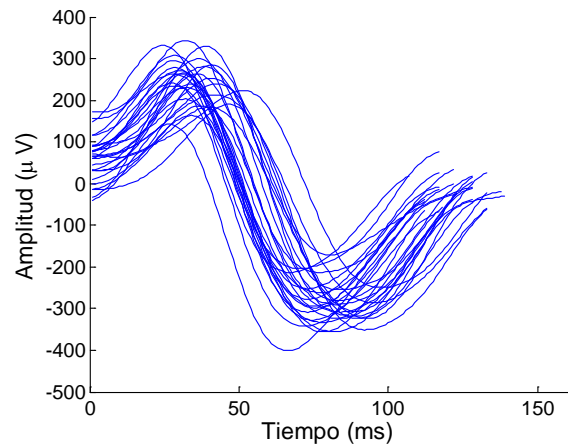


Figura 3. Ondas P extraídas del registro de un paciente tras el procedimiento de ablación.

Estimación de la Longitud del Ciclo Auricular en Electrogramas de Fibrilación Auricular: Estudio Comparativo

D. Osorio Fortea¹, R. Alcaraz Martínez², J.J. Rieta Ibáñez¹

¹BioMIT.org, Dept. de Ingeniería Electrónica, Universitat Politècnica de Valencia, España, {dosorio, jjrieta}@upv.es

²Grupo de Inv. en Electrónica, Telecom. y Bioingeniería, Univ. de Castilla-La Mancha, España, raul.alcaraz@uclm.es

Resumen

Entre los métodos más avanzados y efectivos para el tratamiento de la fibrilación auricular (FA), que es la arritmia cardiaca más comúnmente encontrada en la práctica clínica, destaca la ablación por catéter (AC). Esta técnica puede beneficiarse de métodos capaces de estimar con precisión la longitud de ciclo auricular (LCA), un parámetro ampliamente utilizado para la creación de modelos computacionales de activación auricular. En este estudio, se comparan tres métodos de estimación de LCA sobre 80 registros con electrogramas (EGMs) auriculares complejos fragmentados (CFAEs) anotados por dos cardiólogos. Los CFAEs son EGMs que presentan una alta heterogeneidad tanto de amplitudes y frecuencias de activación, como de formas de onda, lo que dificulta enormemente la estimación de sus LCAs. El primer algoritmo analizado se basa en un umbral de amplitud adaptativo (UAA) para la detección de activaciones. El segundo realiza la detección progresiva de las activaciones prominentes (ILC) y utiliza el LCA promedio para controlar el proceso. Finalmente, se introduce un método nuevo que realiza una detección híbrida de fragmentación (GF) y es capaz de identificar los CFAEs; a los que aplica una reducción de la variabilidad de amplitud, junto con una detección de activaciones en dos etapas anidadas. El error cometido en la estimación de la LCA media en todos los CFAEs analizados fue de 22.46 ± 19.21 ms, 17.21 ± 16.58 ms y 5.63 ± 5.37 ms para los métodos UAA, ILC y GF, respectivamente. Los resultados demuestran que el método propuesto mejora a los otros dos analizados en la estimación de LCAs en CFAEs.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia más común en la práctica clínica, afectando a más de 20 millones de hombres y 12 millones de mujeres en todo el mundo. Además, su prevalencia en individuos con más de 80 años es mayor del 13 %, la cual se estima que aumente en las próximas décadas debido al envejecimiento de la población [1]. Todo esto se traduce en un alto impacto económico de la FA en los servicios sanitarios, sobre los que se estima un aumento anual del coste de 6 a 26 mil millones de dólares sólo en Estados Unidos durante las décadas futuras [2]. Puesto que aún no están totalmente esclarecidos los mecanismos patofisiológicos responsables del establecimiento, mantenimiento y la terminación de la FA, los datos anteriores remarcan la necesidad de la investigación de la FA que puedan dar lugar a estrategias terapéuticas personalizadas y más efectivas.

En cuanto al tratamiento de la FA, la ablación por catéter (AC) es uno de los procedimientos más efectivos y más utilizados en los casos en los que la terapia farmacológica es inefectiva. Asimismo, se espera que sea el tratamiento principal para el control del ritmo en FA en los próximos 20 años [3]. La AC se basa en la realización de cicatrices en el endocardio mediante la aplicación de señales de radiofrecuencia de alta energía, previniendo así que la actividad eléctrica ectópica mantenga la FA. La principal fuente de focos ectópicos son las venas pulmonares (VPs), siendo responsables de provocar la FA en un 82-90 % de los pacientes con FA paroxística [4, 5]. Para el caso de pacientes con FA persistente, los cuales requieren ablación adicional de otras regiones responsables de la FA, se utiliza como estrategia complementaria el mapeo y la ablación de electrogramas auriculares complejos fragmentados (CFAEs) [6]. La estimación de la longitud de ciclo auricular (LCA), definida como el intervalo temporal entre dos activaciones auriculares consecutivas, es utilizada para el guiado y ablación más allá de VPs, ya que los CFAEs pueden ser localizados en regiones que presenten EGMs con una LCA promedio menor de 120 ms [7]. Sin embargo, la estimación precisa de la LCA en CFAEs es un gran desafío debido a su naturaleza compleja y cambiante.

Por tanto, el objetivo del presente estudio es el análisis de la precisión de tres detectores de ondas de activación local (OALs) diferentes como estimadores de LCAs en CFAEs. Para la comparativa se emplearon dos métodos de referencia en la literatura. El primero, es el método de umbral de amplitud adaptativo (UAA) desarrollado por Faes et al. [8], mientras que el segundo corresponde con el método iterador de longitud de ciclo (ILC) introducido por Ng et al. [9]. Por otro lado, el tercer detector de OALs implementado para este estudio es un método basado en la estimación del grado de fragmentación (GF) de los EGMs para la identificación de los CFAEs. Este procedimiento permite aplicar una novedosa reducción de la variabilidad de amplitud de las activaciones exclusivamente sobre los CFAEs, con el objetivo de facilitar la posterior etapa de detección. El método propuesto presenta dos estrategias diferentes de detección. La primera de ellas, que es la fase principal, está orientada a la detección por amplitud de la mayor parte de las activaciones presentes en los EGMs. La segunda estrategia se basa en una búsqueda de posibles activaciones en intervalos de mayor duración que la mediana de las LCAs, estimadas a partir de las detecciones de la primera fase.

2. Materiales

La base de datos que se utilizó en este estudio consistió en un conjunto de 80 EGMs de FA tipo III o CFAEs, de acuerdo con la clasificación propuesta por Wells et al. [10]. Estos se registraron con un sistema CardioLab (General Electric, Wauwatosa, WI, USA) tras el consentimiento informado de los pacientes a los que se les practicaron los correspondientes procedimientos de AC. Este sistema aplica tanto un filtrado en hendidura a 50 Hz para eliminar la interferencia de red eléctrica, como un filtrado paso banda entre 0.5-500 Hz para reducir el ruido de alta y baja frecuencia de las señales, las cuales se remuestrearon a 1 kHz en el momento de su obtención. Tras ello, se aplicó una etapa de reducción del ruido presente en los EGMs utilizando un filtrado Wavelet, puesto que su aplicación ha demostrado mejorar en gran medida el rendimiento del filtrado común [11]. Finalmente, dos cardiólogos anotaron las OALs presentes en la base de datos y clasificaron todos los EGMs de la base de datos como FA tipo III.

3. Métodos

3.1. Método de umbral de amplitud adaptativo

El método UAA, desarrollado por Faes et al. [8], consiste en un algoritmo que implementa el preprocesado de EGMs desarrollado por Botteron y Smith [12]. Esta técnica está dividida en la aplicación de un filtro paso banda de 40-250 Hz, una rectificación de la señal resultante y un filtrado paso bajo con una frecuencia de corte de 20 Hz, dando lugar a la señal s_w . Posteriormente, esta señal se emplea para la detección de activaciones, estableciendo un periodo mínimo entre activaciones de 55 ms. De forma paralela, después del proceso de rectificación, a la señal resultante se le aplica un filtro no causal de media móvil con 90 coeficientes, generando la señal s_f . Esta nueva señal permitirá establecer los tiempos de activación definitivos, correspondiendo con los cruces por cero positivos presentes en esta señal más próximos a las activaciones detectadas sobre la señal s_w . El algoritmo de detección se basa en la estimación de un umbral de amplitud adaptativo que tiene en cuenta la amplitud del pico máximo de las diez últimas activaciones, asignándoles diferentes pesos a cada una, de forma que la relevancia disminuye progresivamente desde la activación previa más cercana hasta la más lejana.

3.2. Método iterador de la longitud de ciclo

Ng et al. introdujeron en 2014 un detector de OALs para la estimación de la LCA en EGMs con FA [9]. El preprocesado que se empleó es similar al de Botteron, pero sustituyendo el filtro paso banda de 40-250 Hz por un filtro paso alto a 40 Hz y aumentando la frecuencia de corte del filtro paso bajo de 20 a 30 Hz. Este algoritmo realiza una detección gradual de los picos más altos en cada iteración, estableciendo un periodo refractario mínimo de ± 50 ms desde cada activación detectada. Este proceso de detección continúa hasta que la mediana de la LCA del EGM sea menor de 275 ms y, además, se cumpla una de las dos condiciones siguientes: que la amplitud del siguiente pico detectado

sea un 20 % menor que la del pico anterior, o bien, que la LCA media sea menor que la mediana de las LCAs más 5 ms [13]. La última fase de la detección se basa en el análisis de la duración de los intervalos entre activaciones. En aquellos que sean un 50 % más largos que la mediana de las LCAs, el pico de mayor amplitud dentro del intervalo se selecciona como una nueva activación, repitiendo el citado proceso hasta que no existan más intervalos con esta característica de duración.

3.3. Método basado en el grado de fragmentación

El método propuesto en este trabajo para la estimación precisa de las LCAs de los EGMs está basado en una estrategia híbrida de detección de OALs, con una primera etapa principal de detección por amplitud, seguida de una detección centrada en la distribución temporal de las activaciones. El filtrado que implementa este método incorpora una nueva modificación respecto al filtrado de Botteron, que consiste en la reducción de la frecuencia de corte mínima del filtro paso banda. En concreto, el método utiliza un filtro paso banda de 20-250 Hz, con el objetivo de procesar de forma más adecuada las activaciones en las que predominan componentes más lentas. Además, el método implementa una novedosa técnica para reducir la variabilidad de amplitud característica de los CFAEs, con el objetivo de facilitar el proceso de detección posterior, aumentando en mayor medida las activaciones de menor amplitud.

El algoritmo de detección comienza con una primera etapa para localizar el mayor porcentaje de activaciones posible, basada en la selección de las activaciones cuyo pico máximo supere un umbral de amplitud. En caso de que existan dos activaciones separadas por menos de 50 ms, la activación con un máximo de amplitud más bajo se elimina. De este modo, se puede calcular la mediana de las LCAs del EGM a través de las activaciones detectadas, la cual sirve como referencia para la posterior etapa del algoritmo.

La segunda etapa consiste en una detección auxiliar para encontrar posibles activaciones menores que no se hayan detectado por ser inferiores al umbral de amplitud. Para ello, se realiza una búsqueda en los segmentos más largos que la mediana de la LCA estimada, de forma que, para cada uno de ellos, se aplica una reducción del umbral de amplitud proporcional a la longitud del intervalo analizado. Esta estrategia se debe a que cuanto más largo sea el intervalo analizado, mayor es la probabilidad de que esté presente una activación en su interior.

Finalmente, para mejorar la precisión en la estimación de la LCA, los tiempos de activación se establecen en el baricentro de cada OAL, calculado como el valor que divide en dos partes iguales su área tras ser rectificada. Después de esta estimación, el método lleva a cabo un último proceso de descarte de activaciones. Se basa en estimar si existe alguna pareja de ellas que tiendan a converger localmente sobre un punto concreto del EGM, sin respetar el periodo refractario mínimo establecido de 50 ms. En estos casos, se elimina la activación con menor amplitud.

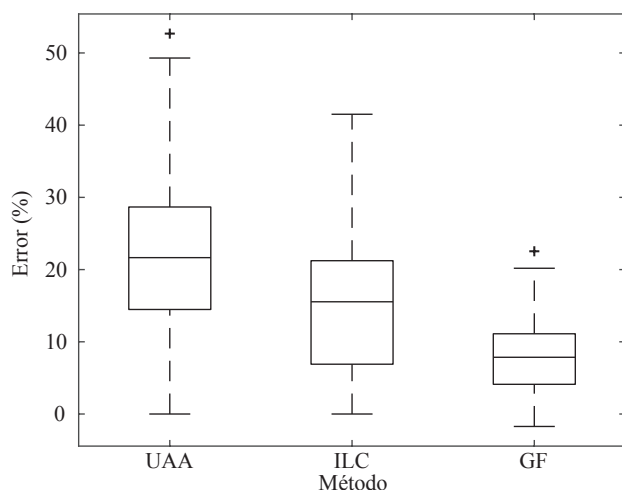


Figura 1. Comparativa de los resultados de detección obtenidos por los tres métodos analizados en este estudio. Los resultados vienen dados como el porcentaje de errores cometidos.

3.4. Evaluación de los métodos

El rendimiento en la estimación de LCA se evaluó mediante el cálculo de la diferencia, en valor absoluto, entre la LCA media de las anotaciones manuales y la LCA media obtenida por cada uno de los métodos implementados para esta comparativa. De esta forma, el error global se determinó en términos de media y desviación típica de los errores de estimación para el conjunto de EGMs.

Además, la precisión de los métodos como detectores de OALs también se evaluó, con el objetivo de comprobar la existencia de una relación clara entre la detección de activaciones y la estimación de LCA. Para ello, se utilizó una ventana temporal de ± 40 ms respecto a las anotaciones manuales para determinar si una detección era correcta. Así, el error se calculó como

$$\text{Error}(\%) = 100 - \frac{\text{TP}}{\text{TP} + \text{FP} + \text{FN}} \cdot 100, \quad (1)$$

donde un verdadero positivo (TP) correspondía con un acierto en la detección, un falso positivo (FP) como una sobre-detección y un falso negativo (FN) como una activación no detectada.

4. Resultados

4.1. Resultados de la detección de OALs

En la Figura 1 se muestran los resultados de la detección de OALs obtenidos por cada método analizado. Para los métodos UAA, ILC y GF, el porcentaje de error cometido en la detección de OALs para la base de datos de EGMs fue de $22.17 \pm 10.28\%$, $15.23 \pm 9.56\%$ y $8.00 \pm 5.36\%$, respectivamente.

4.2. Resultados de estimación de LCAs

Los resultados de la estimación de la LCA media se muestran en la Figura 2. En ésta, los errores exhibidos se corresponden con la diferencia absoluta entre la LCA media de las anotaciones manuales con respecto a la estimada por cada método. Para los métodos UAA, ILC y GF, el error

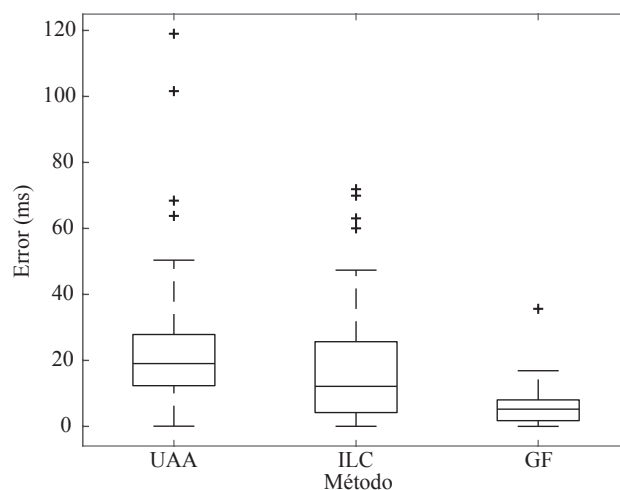


Figura 2. Comparativa de los resultados de estimación obtenidos por los tres métodos analizados en este estudio. Los resultados vienen dados como el error absoluto respecto a la LCA media de las anotaciones.

cometido en la estimación de la LCA media para la base de datos de EGMs fue de 22.46 ± 19.21 ms, 17.21 ± 16.58 ms y 5.63 ± 5.37 ms, respectivamente. Estos resultados demuestran una estimación más precisa por parte del método GF, con un error medio tres veces menor que el método ILC, y siendo el UAA el que presenta los peores resultados, tanto en media como en desviación estándar.

5. Discusión

El método GF ha demostrado ser un estimador más preciso de LCA para CFAEs que los otros dos analizados. Su enfoque híbrido de detección por amplitud y por distribución temporal de activaciones, junto con la equalización de la amplitud de las activaciones en CFAEs y la reducción de la frecuencia de corte mínima del filtro paso banda propuesto por Botteron [12], han demostrado ser aspectos clave para alcanzar los buenos resultados de estimación de LCA que se muestran en la Figura 2. Además, el uso del baricentro de cada OAL para definir los tiempos de activación mejora la precisión de su localización y, de este modo, se pueden estimar de forma más precisa la LCA.

En cuanto al método UAA, tanto la respuesta insuficiente del preprocesado de Botteron para las activaciones lentas, como la insuficiente capacidad de adaptación del umbral de amplitud a las diferentes activaciones presentes en este tipo de EGMs, justifican que este método haya obtenido los resultados más imprecisos, tanto para la detección de OALs como para la estimación de LCA. Asimismo, el impacto de los preprocesados sobre el rendimiento de la detección es más severo sobre el método UAA que sobre el ILC pese a ser muy similares, puesto que el algoritmo de detección de este último no se basa en un umbral de amplitud mínimo. La estrategia del método consiste en ir seleccionando de forma secuencial el valor máximo de amplitud presente en la señal, sin que su valor concreto sea relevante, metodología que le permite realizar detecciones eficaces aunque las amplitudes de las ondas generadas por el filtrado no sean lo suficientemente prominentes.

Método	LCA máxima (ms)	LCA mínima (ms)	LCA media (ms)	Desviación típica de LCA (ms)	Nº LCAs
AM	261.00	51.00	133.62	43.75	73
UAA	321.00	62.00	140.06	46.09	67
ILC	212.00	54.00	143.40	41.61	68
GF	231.00	51.00	133.52	41.71	73

Tabla 1. Comparativa de resultados de la estimación de LCAs obtenidos por cada método analizado en este estudio para un electrograma ejemplo de la base de datos usada. AM corresponde con las anotaciones manuales realizadas por los dos cardiólogos.

A la vista de las Figuras 1 y 2, se comprueba la relación directa que tienen los resultados de la detección de OALs sobre el rendimiento de los métodos en la estimación de la LCA media de los EGMs. Por un lado, aunque los errores de detección del método UAA sean un 277 % mayores que los de GF, los resultados de estimación aumentan a un 399 %. Respecto al método ILC, la detección de activaciones y la estimación de LCA empeoran un 190-306 % respecto al método GF, respectivamente. Esto demuestra la existencia de otros factores que influyen en la estimación de LCAs, como puede ser el establecimiento preciso del tiempo de activación de cada OAL, siendo la estimación de baricentros una estrategia eficaz para su optimización.

Por último, la evaluación del rendimiento en la estimación de las LCAs empleando el error absoluto entre la LCA media estimada y la de las anotaciones es un método impreciso pero utilizado habitualmente [9]. Un ejemplo clarificador se muestra en la Tabla 1, correspondiente a los resultados de la aplicación de los tres métodos sobre un CFAE de la base de datos. Como se puede observar, el método UAA presenta los resultados más dispares respecto a las anotaciones manuales (AM), tanto para la LCA máxima, mínima, desviación típica y número de LCAs estimados. Sin embargo, la LCA media que se obtiene tras el promediado de sus LCAs está más próxima a la LCA media de las AM que el método ILC. Esto se debe a que esta técnica de evaluación puede favorecer a un cierto método cuanto mayor sea su grado de compensación entre errores por sub-detección y sobre-detección, puesto que las LCAs resultantes más largas son contrarrestadas por las más cortas.

6. Conclusiones

El método GF propuesto en este estudio para la estimación de la LCA ha demostrado ser muy preciso en CFAEs, mejorando considerablemente el rendimiento demostrado por los otros dos métodos incluidos en esta comparativa. Por consiguiente, este método de estimación de la LCA puede ser empleado para la creación de modelos computacionales de la aurícula, caracterizando la evolución de su actividad y así asistir a los procedimientos de AC. De esta forma, la creación de estos mapas de actividad puede servir para encontrar de forma más precisa objetivos de ablación responsables del mantenimiento de la FA, mejorando así la ejecución del procedimiento.

Agradecimientos

Trabajo financiado por los proyectos TEC2014-52250-R y DPI2017-83952-C3 MINECO/AEI/FEDER, UE.

Referencias

- [1] Kirchhof P, Benussi S, Kotecha D, Ahlsson A, et al. 2016 ESC guidelines for the management of atrial fibrillation developed in collaboration with EACTS. *European Heart Journal* 2016;37(38).
- [2] Pathak RK, Evans M, Middeldorp ME, Mahajan R, et al. Cost-effectiveness and clinical effectiveness of the risk factor management clinic in atrial fibrillation: The CENT study. *JACC Clinical Electrophysiology* 2017;3(5):436-447.
- [3] Gillis AM, Krahn AD, Skanes AC, Nattel S. Management of atrial fibrillation in the year 2033: New concepts, tools, and applications leading to personalized medicine. *Canadian Journal of Cardiology* 2013;29(10):1141-1146.
- [4] Lau DH, Schotten U, Mahajan R, Antic NA, et al. Novel mechanisms in the pathogenesis of atrial fibrillation: Practical applications. *European Heart Journal* 2016; 37(20):1573-1581.
- [5] Morin DP, Bernard ML, Madias C, Rogers PA, Thihalolipavan S, Estes NAM. The state of the art: Atrial fibrillation epidemiology, prevention, and treatment. *Mayo Clinic Proceedings* 2016;91(12):1778-1810.
- [6] Kumagai K, Sakamoto T, Nakamura K, Nishiuchi S, Hayano M, Hayashi T, Sasaki T, Aonuma K, Oshima S. Combined dominant frequency and complex fractionated atrial electrogram ablation after circumferential pulmonary vein isolation of atrial fibrillation. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology* 2013;24(9):975-983.
- [7] Baumert M, Sanders P, Ganesan A. Quantitative-electrogram-based methods for guiding catheter ablation in atrial fibrillation. *Proceedings of the IEEE* 2016; 104(2):416-431.
- [8] Faes L, Nollo G, Antolini R, Gaita F, Ravelli F. A method for quantifying atrial fibrillation organization based on wave-morphology similarity. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 2002;49(12 I):1504-1513.
- [9] Ng J, Sehgal V, Ng JK, Gordon D, Goldberger JJ. Iterative method to detect atrial activations and measure cycle length from electrograms during atrial fibrillation. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 2014;61(2):273-278.
- [10] Wells JL, Karp RB, Kouchoukos NT, MacLean WAH, James TN, Waldo AL. Characterization of atrial fibrillation in man: Studies following open heart surgery. *Pacing and Clinical Electrophysiology* 1978;1(4):426-438.
- [11] Martínez-Iniesta M, Ródenas J, Alcaraz R, Rieta JJ. Waveform integrity in atrial fibrillation: The forgotten issue of cardiac electrophysiology. *Annals of Biomedical Engineering* 2017;45(8):1890-1907.
- [12] Botteron GW, Smith JM. A technique for measurement of the extent of spatial organization of atrial activation during atrial fibrillation in the intact human heart. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 1995;42(6):579-586.
- [13] Ng J, Kadish AH, Goldberger JJ. Effect of electrogram characteristics on the relationship of dominant frequency to atrial activation rate in atrial fibrillation. *Heart Rhythm* 2006;3(11):1295-1305.

Análisis Espectral del ECG Como Asistencia para la Terminación de Ablación por Catéter en Fibrilación Auricular

R. Alcaraz Martínez¹, F. Hornero Sos², J.J. Rieta Ibáñez³

¹ Grupo de Inv. en Electrónica, Telecom. y Bioingeniería, Univ. de Castilla-La Mancha, España, raul.alcaraz@uclm.es

² Servicio de Cirugía Cardíaca, Hospital Clínico Universitario de Valencia, España, hornero_fer@gva.es

³ BioMIT.org, Departamento Ingeniería Electrónica, Universidad Politécnica de Valencia, España, jjrieta@upv.es

Resumen

La ablación por catéter (AC) es hoy en día la terapia más empleada en pacientes con fibrilación auricular (FA). Sin embargo, más allá del aislamiento eléctrico de las venas pulmonares, no existe un consenso sobre la necesidad de provocar lesiones adicionales en el caso de FA persistente. No obstante, el objetivo de todo procedimiento de AC es provocar el menor número de lesiones auriculares para mantener al paciente durante el mayor tiempo posible en ritmo sinusal. Así pues, la determinación del punto óptimo para su terminación es un aspecto muy interesante. Con este propósito, el presente trabajo explora la capacidad de algunos índices espectrales obtenidos de la señal de actividad auricular reflejada sobre el ECG de superficie. Así, la variación experimentada durante el procedimiento de AC por la frecuencia auricular dominante (FAD), su ancho de banda a 3 dB (AB_{3dB}) y la frecuencia mediana (FM) del espectro completo, se han analizado en la derivación VI de 15 pacientes. Los resultados muestran una fuerte coincidencia entre la FAD y la FM, cuyas variaciones durante el procedimiento de AC son capaces de anticipar el resultado del mismo después de un seguimiento de 3 meses con una precisión entre el 70 y el 80%. Por tanto, la monitorización de estos índices espectrales puede ofrecer información interesante en tiempo real para valorar si debe continuar o no la AC.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia supraventricular más comúnmente encontrada en la práctica clínica diaria, la cual provoca aproximadamente un tercio de todas las hospitalizaciones por desordenes del ritmo cardíaco [1]. Su prevalencia aumenta con la edad, tal que aproximadamente el 4 y el 15 % de la población mundial mayor de 70 y 80 años, respectivamente, sufre esta arritmia cardíaca [2]. Aunque no es mortal a corto plazo, la FA facilita la formación de trombos dentro de las aurículas, aumentando así el riesgo de sufrir accidentes cerebrovasculares y reduciendo la calidad de vida del paciente [1].

Considerando su evolución, la FA se puede clasificar en varios grupos [3]. Así, normalmente comienza con episodios paroxísticos (es decir, que terminan por sí mismos) de corta duración, los cuales tienden a ser más persistentes

con el tiempo. Por tanto, en el primer grupo se encuentra la FA paroxística (FAP), en la cual los episodios son auto-limitados y tienen una duración inferior a 7 días. En el segundo grupo se engloba a la FA persistente, la cual requiere de una intervención externa, tal como la cardioversión eléctrica o la ablación por catéter (AC), para su terminación. Cabe mencionar que aproximadamente entre el 15 y 31 % de los pacientes de FAP evolucionan a persistente en un periodo de 4 a 8 años [4]. Finalmente, en el último grupo se encuadra a la FA permanente. En este caso, no es posible recuperar el ritmo sinusal normal (RS) mediante ningún tratamiento, persiguiéndose entonces únicamente controlar la frecuencia cardíaca [3].

Cuando se inicia un episodio de FA, independientemente de su duración, el impulso eléctrico generado en el nodo sinusal se reemplaza por un patrón complejo de despolarización de las aurículas, el cual cambia de forma rápida y aleatoria con cada latido [5]. De hecho, la bien definida onda P en el electrocardiograma (ECG) de superficie se reemplaza por ondas que varían en tiempo y morfología, las cuales se denominan ondas fibrilatorias (u ondas *f*) [6]. Sin embargo, todavía no se conocen completamente los mecanismos que provocan este comportamiento, aunque existen varias teorías al respecto [5]. Así, algunos trabajos soportan la idea de que la FA es generada por uno o varios focos fibrilatorios que generan una actividad de alta frecuencia que despolariza caóticamente las aurículas. Por otro lado, otros investigadores mantienen la hipótesis de que durante la FA se pueden encontrar varios frentes de onda, llamados reentradas, que se desplazan aleatoriamente por las aurículas, provocando así su desorganizada despolarización [5].

En este contexto y a pesar de los avances conseguidos en la última década, los diferentes tratamientos que existen hoy en día todavía no son completamente eficientes para terminar de forma definitiva con esta arritmia [7]. Así, en los últimos años se está utilizando de forma habitual la AC para tratar a pacientes que no responden positivamente a un tratamiento farmacológico [8], pero la tasa de recurrencia de FA a largo plazo, en pacientes con una arritmia persistente, sigue siendo cercana al 50 % [9]. De cualquier forma, los expertos consideran que este tratamiento es esencial para mejorar la calidad de vida de los pacientes, hasta

el punto que, hoy en día, la AC se ha convertido en la primera línea de actuación terapéutica en FA y en uno de los procedimientos más practicados en todo el mundo [10].

Desde que Haïssaguerre y sus colaboradores demostraron que la aparición de una actividad eléctrica ectópica en las venas pulmonares (VPs) es la principal fuente de disparo de la arritmia, el aislamiento eléctrico de esta zona auricular se ha convertido en el procedimiento de referencia de AC [10]. Sin embargo, debido a la limitada tasa de éxito anteriormente comentada para los pacientes de FA persistente, en los últimos años han aparecido diferentes formas de complementar este procedimiento mediante la realización de lesiones auriculares adicionales. En este sentido, se pueden encontrar estrategias basadas en compartimentar las aurículas mediante la realización de líneas similares a los procedimientos de cirugía MAZE, así como en eliminar aquellos puntos auriculares que presentan un electrograma complejo y fraccionado (CFAE) o aquellas zonas que mantienen los conductores de la arritmia, denominados comúnmente rotores [11]. Lamentablemente, algunos estudios multicéntricos recientes han puesto en duda la efectividad de estos procedimientos en comparación con el simple aislamiento de las VPs, así haciéndose patente la necesidad de más ensayos clínicos [12, 13].

No obstante, a pesar de que todavía hoy no exista un consenso sobre qué protocolo de AC es más efectivo, se puede resaltar que el objetivo de cualquiera de ellos es provocar la menor cantidad de lesiones auriculares posible para mantener al paciente en RS durante el mayor tiempo posible [14]. Sin embargo, aunque no existen evidencias para mantener que la terminación de la arritmia durante la AC sea un indicador fiable de la eficiencia del procedimiento, la mayor parte de ellos terminan cuando la FA revierte y su reinducción no se consigue tras varios intentos [14]. Así pues, considerando que algunos trabajos previos han demostrado que una caída del 10 % de la frecuencia auricular dominante (FAD) estimada desde el electrocardiograma (ECG) puede ser un camino eficiente para determinar el punto óptimo de terminación de cualquier procedimiento de AC [15], en este trabajo se analizan dos parámetros espectrales, tal como son el ancho de banda a 3 dB (AB_{3dB}) de la FAD y la frecuencia mediana (FM).

2. Materiales

El estudio consideró 15 pacientes con FA persistente, de los cuales se obtuvieron el ECG estándar de 12 derivaciones así como otros registros intracardiacos antes de aplicarles un procedimiento de AC. La duración de estas señales fue de 10 segundos, empleándose para su registro una frecuencia de muestreo de 977 Hz y 16 bits de cuantificación.

El protocolo de AC utilizado se ha descrito en varios trabajos previos [16]. De forma breve, consistió en aislar las VPs y, posteriormente, eliminar áreas auriculares con una frecuencia 1.2 veces mayor que la basal. El procedimiento terminó cuando la FA revirtió a RS y su reinducción fue imposible o cuando ya no se apreciaron más áreas auriculares cumpliendo el criterio establecido.

A todos los pacientes se les realizó seguimiento de, al menos, tres meses después de la AC, observándose que, tras el mismo, la mitad de ellos aproximadamente mantenían el RS (7) y la otra mitad habían recaído a FA (8).

3. Métodos

3.1. Preprocesado del ECG

A pesar de estar disponibles las 12 derivaciones del ECG, solo se analizó la V1, ya que ésta contiene las ondas *f* de mayor amplitud, al tratarse de la derivación más cercana a la aurícula derecha [6]. Para facilitar su análisis posterior, en primer lugar, se le aplicó un preprocesado estándar [17]. Así, se filtró paso alto con una frecuencia de corte de 0.5 Hz para eliminar la línea base y, a continuación, se filtró paso bajo con una frecuencia de corte de 70 Hz para reducir el ruido muscular de alta frecuencia [17]. A la señal también se le aplicó un filtrado notch para eliminar la interferencia de la red eléctrica de 50 Hz [17].

Posteriormente, se extrajeron las ondas *f* mediante la cancelación del complejo QRST. Para ello, se detectaron todos los picos R y se obtuvo la plantilla ventricular para su sustracción como la primera componente principal de todos los complejos identificados [18]. Finalmente, se obtuvo la densidad espectral de potencia (DEP) de la señal resultante mediante el uso del periodograma de Welch, utilizando como parámetros una ventana Hamming de 4.096 puntos y un solapamiento del 50 % entre ventanas consecutivas [19].

3.2. Caracterización espectral de las ondas *f*

De acuerdo con una multitud de trabajos previos [20], la FAD se seleccionó como la frecuencia con mayor DEP dentro del intervalo 3–9 Hz. También se obtuvo su AB_{3dB} como la diferencia entre las frecuencias superior e inferior a dicho pico, las cuales presentaban la mitad de DEP. Finalmente, la frecuencia dividiendo el espectro en dos partes con igual DEP se consideró como la FM [21]. Este parámetro se ha estudiado ampliamente en electroencefalografía, ya que permite resumir la distribución de potencia en el espectro de una señal de forma sencilla y rápida [21].

3.3. Evaluación del funcionamiento

Para cuantificar el efecto provocado por el procedimiento de la AC sobre el sustrato auricular, los tres parámetros espectrales descritos se evaluaron antes del comienzo y de la terminación del mismo, obteniéndose así la diferencia entre ellos. Los valores obtenidos se expresan a lo largo del texto en media \pm desviación estándar para los dos grupos de pacientes, es decir, aquellos que después del seguimiento habían recaído a AF y los que todavía mantenían el RS. La existencia de diferencias estadísticamente relevantes entre ambos grupos de pacientes se estimó mediante el test paramétrico de la *t*-Student, considerándose un valor de $p < 0.05$ como significativo.

Por otra parte, para evaluar la capacidad predictiva de la variación sufrida por los parámetros analizados se empleó la curva ROC (Receiver Operating Characteristics). Para cada parámetro, dicha curva se construyó seleccionando

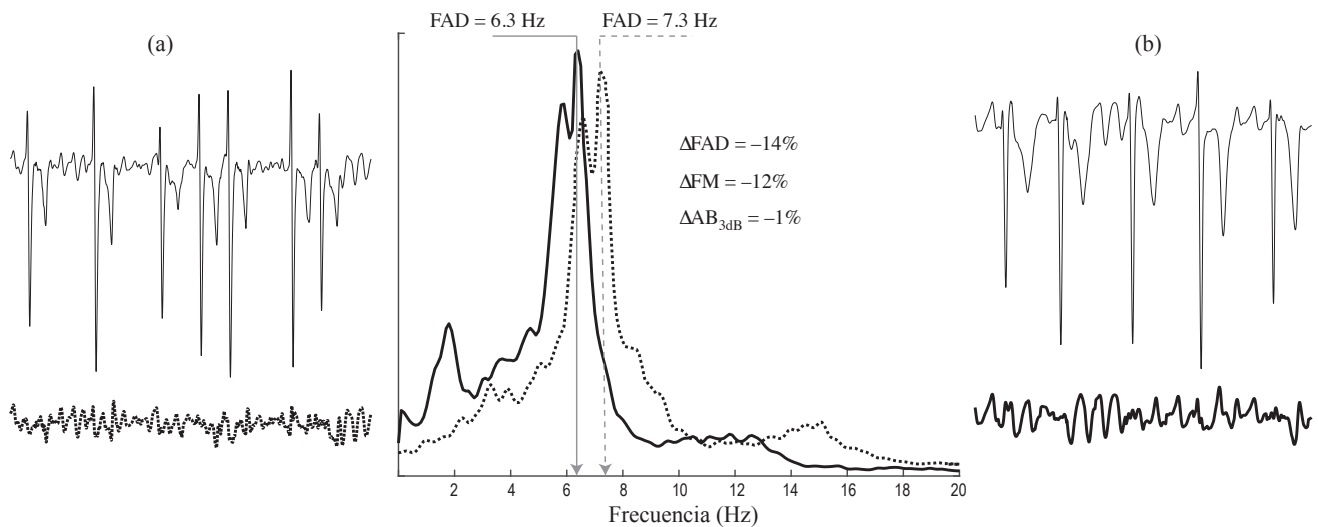


Figura 1. Ejemplo de segmentos de ECG extraídos justo antes del comienzo del procedimiento de AC (a) y de su terminación (b). También se puede observar la señal de AA extraída en cada caso, junto con sus distribuciones espectrales y la variación experimentada por los parámetros estudiados

Índice	Pacientes que mantienen RS	Pacientes que recaen a FA	<i>p</i>
ΔFAD	$-3.6 \pm 8.9 \%$	$1.3 \pm 10.3 \%$	0.1
ΔAB_{3dB}	$0.3 \pm 6.8 \%$	$0.3 \pm 9.3 \%$	0.2
ΔFM	$-2.3 \pm 7.4 \%$	$0.3 \pm 9.5 \%$	0.1

Tabla 1. Valor medio y desviación estándar de la variación experimentada por los índices espectrales analizados durante el procedimiento de AC.

automáticamente diversos umbrales dentro de su rango de valores y calculando el par sensibilidad-especificidad para cada uno de ellos. La sensibilidad se consideró como el número de pacientes que recayeron a FA al final del seguimiento correctamente clasificados, mientras que la especificidad como la proporción de pacientes en RS correctamente identificados. El porcentaje total de pacientes apropiadamente clasificados fue considerado como la precisión diagnóstica y el umbral óptimo se determinó como aquél que maximizaba esta precisión diagnóstica.

4. Resultados

Un ejemplo ilustrativo de los resultados se muestra en la Figura 1, donde se pueden observar segmentos de ECG antes del comienzo y de la terminación de la AC junto con la actividad auricular (AA) extraída de ellos y su caracterización espectral para un paciente que mantiene el RS después del seguimiento. Se debe notar que la distribución espectral mantiene su forma después del procedimiento de AC, pero se desplaza notablemente a frecuencias más bajas. Los resultados globales obtenidos para todos los pacientes se resumen en la Tabla 1 y la Figura 2. Aunque se puede observar una dispersión importante, también se puede apreciar que tanto la FAD como la FM obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos de pacientes. Además, mientras que ambos parámetros solo aumentaron ligeramente durante el procedimiento de AC para aquellos pacientes que recayeron a FA después del se-

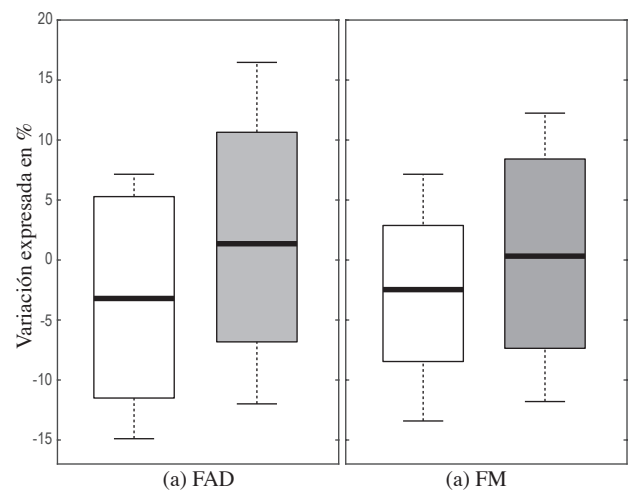


Figura 2. Diagrama de cajas y bigotes de la variación sufrida por la DAF y la FM durante el procedimiento de AC para los pacientes que mantenían el RS (caja blanca) y recayeron a FA (caja sombreada) después del seguimiento.

guimiento, se observó una caída notable para aquellos que mantenían el RS.

De acuerdo los resultados, la variación de estos parámetros también ofreció una interesante capacidad para anticipar el resultado del procedimiento de AC tras el seguimiento. Sin embargo, la FM mostró una precisión diagnóstica ligeramente superior que la FAD. De hecho, mientras que la FAD obtuvo valores de sensibilidad, especificidad y precisión del 71.4, 75.0 y 73.3 %, la FM presentó unos valores de 85.7, 75.0 y 80.0 %, respectivamente.

5. Discusión y conclusiones

Los resultados obtenidos muestran un fuerte acuerdo entre la FAD y la FM, a pesar de que ambos índices se calculan y hacen referencia a aspectos completamente diferentes. Así, mientras que la FAD es un índice aceptado por la comunidad médica por presentar información útil en muchos

contextos así como por resumir la frecuencia de despolarización auricular, la FM determina la frecuencia que divide la DEP en dos mitades iguales. Por tanto, este resultado sugiere que, aunque el espectro de las señales de AA se desplace o no en frecuencia durante el procedimiento de AC, su morfología se mantiene sin alteraciones significativas, tal como ha mostrado para un caso típico la Figura 1.

Interesantemente, los pacientes que mantuvieron el RS mostraron una caída en estos dos parámetros, mientras que aquellos que recayeron a FA presentaron valores ligeramente superiores antes y después de la AC. Este resultado está en línea con trabajos previos [15], pero la caída mostrada por la FAD es aproximadamente la mitad en valor absoluto. No obstante, considerando que la derivación V1 refleja la frecuencia fibrilatoria de la aurícula derecha [22], el resultado obtenido estaría también de acuerdo con otros trabajos que han revelado que la FAD disminuye en esta aurícula en aquellos pacientes que son capaces de mantener el RS un tiempo después del procedimiento de AC [16].

Por otro lado, la variación experimentada por la concentración espectral de potencia alrededor de la FAD, medida por el AB_{3dB} , no fue capaz de obtener diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes que mantenían el RS al final del seguimiento y los que no lo hacían. Cabe mencionar que también se han reportado resultados muy similares cuando el AB_{3dB} se ha empleado para predecir el resultado de la cardioversión eléctrica [19]. Por lo tanto, dado que ambos procedimientos provocan alteraciones muy diferentes del sustrato auricular, se podría considerar que esta métrica tampoco podría ser un buen predictor *a priori* del resultado de otras terapias actuales utilizadas para tratar la FA, tal como la cardioversión farmacológica o la cirugía cardíaca.

Finalmente, se debe indicar que el número de pacientes analizados es limitado y, por tanto, los resultados obtenidos se deben considerar con cautela. No obstante, la monitorización no invasiva de las características espectrales de la señal de actividad auricular parece interesante para cuantificar en tiempo real la alteración provocada por el procedimiento de ablación y así poder evaluar de forma precisa y objetiva la necesidad de su continuación o terminación.

Agradecimientos

Trabajo financiado por los proyectos TEC2014-52250-R y DPI2017-83952-C3 MINECO/AEI/FEDER, UE.

Referencias

- [1] January CT, Wann LS, Alpert JS, Calkins H, Cigarroa JE, et al. 2014 AHA/ACC/HRS guideline for the management of patients with atrial fibrillation. *Circulation* Dec 2014; 130(23):e199–267.
- [2] Zoni-Berisso M, Lercari F, Carazza T, Domenicucci S. Epidemiology of atrial fibrillation: European perspective. *Clin Epidemiol* 2014;6:213–20.
- [3] Gallagher MM, Camm J. Classification of atrial fibrillation. *Am J Cardiol* Oct 1998;82(8A):18N–28N.
- [4] de Vos CB, Pisters R, Nieuwlaat R, et al. Progression from paroxysmal to persistent atrial fibrillation clinical correlates and prognosis. *J Am Coll Cardiol* Feb 2010;55(8):725–31.
- [5] Schotten U, Verheule S, Kirchhof P, Goette A. Pathophysiological mechanisms of atrial fibrillation: a translational appraisal. *Physiol Rev* Jan 2011;91(1):265–325.
- [6] Petrutiu S, Ng J, Nijm GM, Al-Angari H, Swiryn S, Sahakian AV. Atrial fibrillation and waveform characterization. A time domain perspective in the surface ECG. *IEEE Eng Med Biol Mag* 2006;25(6):24–30.
- [7] Censi F, Cianfrocca C, Purificato I. Atrial fibrillation and the 4P medicine. *Ann Ist Super Sanita* 2013;49(3):247–8.
- [8] Gerstenfeld EP, Duggirala S. Atrial fibrillation ablation: Indications, emerging techniques, and follow-up. *Prog Cardiovasc Dis* Aug 2015;.
- [9] Ganesan AN, Shipp NJ, et al. Long-term outcomes of catheter ablation of atrial fibrillation: a review and meta-analysis. *J Am Heart Assoc* Apr 2013;2(2):e004549.
- [10] Morin DP, Bernard ML, Madias C, Rogers PA, Thihalolipavan S, Estes 3rd NAM. The state of the art: Atrial fibrillation epidemiology, prevention, and treatment. *Mayo Clin Proc* Dec 2016;91(12):1778–1810.
- [11] Latchamsetty R, Morady F. Atrial fibrillation ablation. *Annu Rev Med* Aug 2017;.
- [12] Verma A, Jiang Cy, Betts TR, Chen J, Deisenhofer I, Mantovan R, Macle L, Morillo CA, Haverkamp W, Weerasooriya R, Albenque JP, Nardi S, Menardi E, Novak P, Sanders P, STAR AF II Investigators. Approaches to catheter ablation for persistent atrial fibrillation. *N Engl J Med* May 2015; 372(19):1812–22.
- [13] Nattel S, Xiong F, Aguilar M. Demystifying rotors and their place in clinical translation of atrial fibrillation mechanisms. *Nat Rev Cardiol* Sep 2017;14(9):509–520.
- [14] Baker M, Kumar P, Hummel JP, Gehi AK. Non-inducibility or termination as endpoints of atrial fibrillation ablation: What is the role? *J Atr Fibrillation* 2014;7(3):1125.
- [15] Yoshida K, Chugh A, Good E, Crawford T, Myles J, Veerareddy S, Billakanty S, Wong WS, Ebinger M, Pelosi F, Jongnarangsin K, Bogun F, Morady F, Oral H. A critical decrease in dominant frequency and clinical outcome after catheter ablation of persistent atrial fibrillation. *Heart Rhythm* Mar 2010;7(3):295–302.
- [16] Ateienza F, Almendral J, Jalife J, Zlochiver S, et al. Real-time dominant frequency mapping and ablation of dominant frequency sites in atrial fibrillation with left-to-right frequency gradients predicts long-term maintenance of sinus rhythm. *Heart Rhythm* Jan 2009;6(1):33–40.
- [17] Sörnmo L, Laguna P. *Biomedical Signal Processing in Cardiac and Neurological Applications*. Elsevier Academic Press, 2005.
- [18] Alcaraz R, Rieta JJ. Adaptive singular value cancellation of ventricular activity in single-lead atrial fibrillation electrocardiograms. *Physiol Meas* Dec 2008;29(12):1351–69.
- [19] Alcaraz R, Rieta JJ. Time and frequency recurrence analysis of persistent atrial fibrillation after electrical cardioversion. *Physiol Meas* May 2009;30(5):479–89.
- [20] Yoshida K, Aonuma K. Catheter ablation of atrial fibrillation: Past, present and future directions. *Journal of Arrhythmia* 2012;28:83–90.
- [21] Hornero R, Escudero J, Fernández A, Poza J, Gómez C. Spectral and nonlinear analyses of MEG background activity in patients with Alzheimer's disease. *IEEE Trans Biomed Eng* Jun 2008;55(6):1658–65.
- [22] Hsu NW, Lin YJ, Tai CT, Kao T, Chang SL, Wongcharoen W, Lo LW, Udyavar AR, Hu YF, Tso HW, Higa S, Chen SA. Frequency analysis of the fibrillatory activity from surface ECG lead V1 and intracardiac recordings: implications for mapping of AF. *Europace* 2008;10(4):438–43.

Imagen Biomédica II

Miércoles, 29 de Noviembre

Serial Section Alignment of Histopathological Images stained with different Biomarkers

J. Gallego, M. Fernandez-Carrobles, O. Deniz, G Bueno

VISILAB Group, Universidad de Castilla-La Mancha, E.T.S.I.I, Ciudad Real, Spain,

{Jaime.Gallego, MMilagro.Fernandez, Oscar.Deniz, Gloria.Bueno}@uclm.es

Abstract

Registration of whole slide images (WSI) allows simultaneous analysis of multiple biomarkers and colocalization of regions of interest from consecutive tissue segments. This is a key process in digital pathology. In this paper, we propose a novel registration system for digitized stained segments that faces the drawback of working with high resolution (HR) WSI. To this end, a global to grid-based registration framework on a Low Resolution (LR) version of the original sample is applied. We first compute a downsampling of the HR virtual slides under analysis and apply a global rigid registration based on Mutual Information. The accuracy of this rigid registration is enhanced by using the demons non-rigid registration algorithm, over square blocks of the rigid registration result image. Finally, we transfer the transformation obtained from both LR rigid and deformable registrations to the original HR images. The results obtained show that this technique yields satisfactory registration results over HR slides in a valid operational time and ensuring color constancy. Thus, improving the quality and performance of related works. Besides, this proposal allows an accurate WSI registration, which is difficult to obtain when working directly at the original slide resolution.

1. Introduction

Pathologists generate a huge amount of data samples from tissue sections. These tissue sections are stained with different biomarkers according to the clinicopathological features to analyse. The stains allow to examine multiple proteins to extract relevant information from the complex biological processes involved in serious pathologies. For instance, in our research, to detect cancer subtypes the set of biomarkers considered are: immunohistochemistry (IHC) with Ki-67, expression of estrogen receptors (ER), progesterone receptors (PR), human epidermal growth factor receptor 2 (Her2) and the tumor histology conformed by Hematoxilin-Eosin (HE) stain. **Figure 1** shows an example of these biomarkers in a serial slide analysis.

Advances in digital pathology has partially solved the performance of examining each consecutive stained sample to get a diagnosis for each set of biomarkers. The digitalization of the tissue slides into High Resolution (HR) Whole Slide Images (WSI) allows pathologists to visualize the serial slides on a screen by just opening each individual WSI. Ideally, the set of stained WSIs for each tissue should be correctly registered in terms of position, rotation and shape to allow pathologists to compare the stained sections in a single view. However, the process of

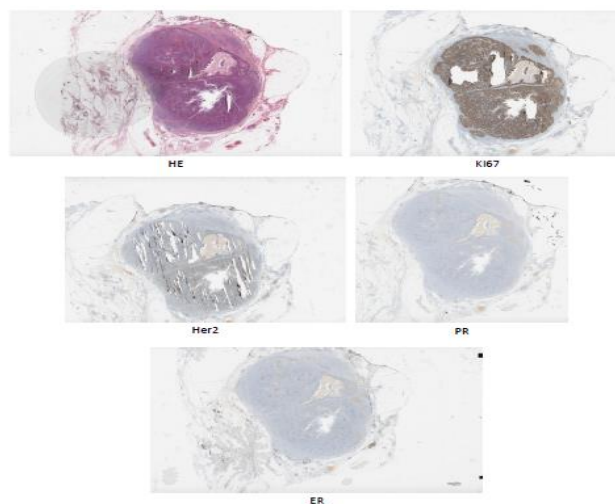


Figure 1 Example of serial WSIs stained with different biomarker: Ki67, Her2, PR and ER stains. The example shows the variability in terms of spatial, color and tissue structures present in the different sections.

serial section alignment in WSI is far from being automatic and still presents some drawbacks:

- Spatial differences in terms of shape and position of the structures, which can include: distortions, deformations or even folds and tissue breaks.
- Colour differences due to the stain used in each section.
- Large size of WSIs (GigaByte images), which makes manipulation and processing difficult.

In **Figure 1**, we can observe an example of the high variability present in one WSI set, and the difficult scenario we are facing.

1.1. Image registration survey

Registration has been used in several image processing applications, including medicine (mainly in radiology). In [1] the authors give a comprehensive survey of different registration methods. Another survey maybe found in Goshtasby *et al.* [2], and more recently in Sotiras *et al.* [3].

The application of registration techniques to microscopic images has started relatively late, about 7 years ago. Most of the registration methods consist of the following four steps: feature detection, feature matching, transformation estimation and re-sampling.

In [4], the authors propose a system to register prostate MR images to pathological serial sections. In [5], Mueller *et al.* use two-step registration on low-resolution images applied to the tissue region under analysis. Lopez *et al.* in [6], show a WSIs registration method based on the Elastix registration framework ([7]) to register multimodal WSIs.

In [8], Deniz *et al.* presented a Multi-Stained WSIs alignment based on rigid registration transformation and Mutual Information. Recently, Trahearn Schwier *et al.* propose in [9], a framework for robust registration of serial sections stained with different markers. Finally, in [10], the authors propose a patch-based registration for gigabyte WSIs, which work with a low-resolution version of the WSI. The main drawback of these systems is that they need huge computational time to compute the registration of the High Resolution (HR) WSI. Besides, some of them does not deal with the color distortion that appears after the deformation applied to each patch.

In this paper, we propose an image registration method applied to digital pathology area that achieves a fast computation and solve color distortion problems associated to accurate deformable registrations. We propose a WSI registration that follows a coarse to fine work-flow, starting to a Low Resolution (LR) version of the original HR WSI. We use a global Intensity-based rigid transformation based on Mutual Information, and a deformable registration applied to blocks of the image, which allow the parallelization of this costly process. The deformable registration that we use is the diffeomorphic demons algorithm proposed by Vercauteren *et al.* in [11] and based on the demons algorithm [12].

The remainder of the paper is organized as follows. Section 2 describes the materials and database. Section 3 presents the proposed method, detailing the functionality of each step. Quantitative and qualitative results are shown in Section 3. Finally, conclusions are drawn in Section 4.

2. Materials

Experiments have been performed with a dataset created by expert pathologists. The dataset is composed of 36 breast tissue samples extracted from incisional biopsies to detect cancer regions. The tissue sample preparation previous to the WSI digitalization is the regular systematic process used in any pathology laboratory. The process is characterized by:

- Formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue samples.
- Section thickness of 4 μm .
- The serial sections from each case were stained with five biomarkers: Ki-67, ER, PR, Her2 and HE.
- Slides digitized at 20x magnification with an Aperio ScanScope XT scanner. Thus, a dataset composed of 36 WSI ranged between 1GB to 10 GB was used.

3. Method

We propose a registration method for WSIs that exploits the advantages of both rigid and non-rigid registration to

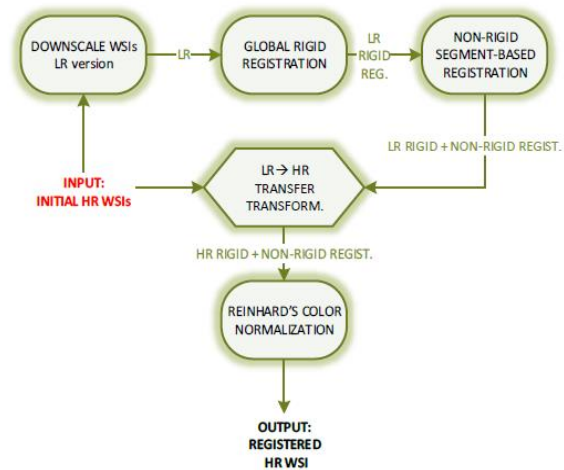


Figure 2 Work-flow of the proposed registration method.

achieve a correct alignment between serial sections. Since HR WSIs have Gigabyte sizes, the computational cost of any process or transformation is too high to consider working directly with these slides. Therefore, we propose to use a LR version of the original sections to compute the registration process in an acceptable time. In a posterior step, we apply all the image transformations to the HR WSIs, thus keeping the HR quality in the final registered slides.

Given the high cost that non-rigid registration presents, even for LR WSIs, we decide to apply it in a block-based framework to register image blocks in parallel, thus speeding up this costly process. Besides, since this registration adds a color distortion according to the deformation applied, this block-based approach results in a color modification for each of the blocks. Hence, we propose to apply a color normalization method, in a final step, to keep the color constancy.

The improvements of the proposed method in WSI registration are twofold: First, we achieve an accurate registration for HR WSIs that combines rigid and deformable registration methods and solves color distortion. Second, the registration is fast since we work with LR versions of the original WSIs, and we apply the non-rigid registration to square blocks.

The work-flow of the proposed method is shown in **Figure 2**, with the following steps:

1. Use a Low Resolution (LR) version of the WSIs to register: The HR WSIs to process have a huge size (20x magnification, with sizes starting from 20k x 10k pixels to 70k x 50k pixels). We work with low resolution (LR) images with a magnification of 2x.

2. Apply rigid registration to LR image based on mutual information.

The iterative steps followed by the rigid registration are:

- Rigid image transformation (rotation, translation).
- Bilinear Interpolation. The image is interpolated with a bilinear filter used to construct the final resampled moving image from the geometric transformation estimate.

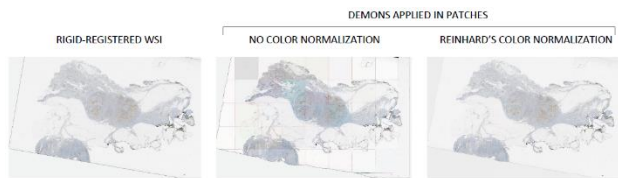


Figure 3 Color normalization using Reinhard's technique.

- **Mutual Information.** Mutual Information (MI) is used here to evaluate the similarity that each reference and moving image pairs present along the optimization iterations. High MI value denotes that images are well aligned, i.e. the values of one set of pixels match to similar values in the other image.
- **Optimizer.** The one plus one evolutionary algorithm [13] is used to change the parameter set to produce the geometric transformations along the iterations through the multi-resolution levels (from coarse to fine). The stop criterion is set according to a maximum MI value and a maximum number of iterations. In our case, the maximum number of iterations is 100.

3. Refine the coarse rigid registration by applying diffeomorphic demons non-rigid registration in square regions or blocks to allow parallelization.

These techniques are defined as non-parametric spatial transformations. They specify a different displacement $U(X)$ for each pixel of the image X to get the transformed image $T(X)$, correctly aligned with the reference one. Hence:

$$T(X) = X + U(X), \quad (2)$$

The goal of the registration is to find the transformation T that maps each point of X .

With the aim of reducing the computational cost of the diffeomorphic demons registration, we propose the following strategies:

-Divide the LR WSIs in squared blocks and apply the deformable algorithm in parallel for each block. According to our experiments, an area of 1/30 of the reference LR WSI area yields correct results. Thus, on average of the dataset considered the size of the tissue blocks is 512x512 pixels. Since each block is registered separately, merging artifacts can be observed at the borders of the blocks. Although we do not address these situations in our implementation, to avoid its computational cost, slightly overlapping blocks and stitching techniques among them can be used to avoid these situations.

-Avoid the processing of squared blocks that do not contain any tissue. In order to detect these regions, we compute a tissue segmentation for each LR WSIs by means of background segmentation.

4. Transfer resultant rigid+deformable LR registration to the entire HR WSI. We transfer the Rigid + Deformable registration to the HR moving slide. We apply it in the same order as it was computed.

5. Finally, a color normalization based on Reinhard's method [14] is applied to correct the color variations that all spatial deformations add to the

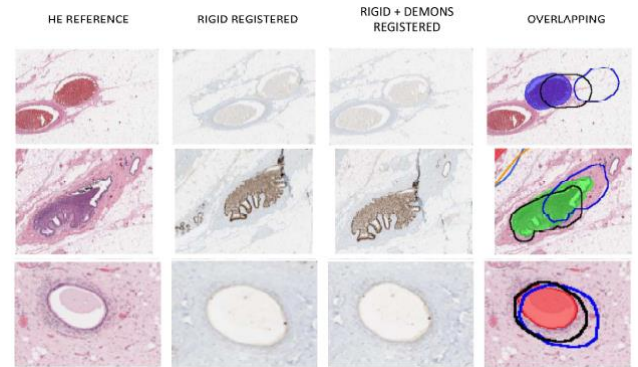


Figure 4 Qualitative region evaluation. 1st column: reference HE region; 2nd column: biomarker region or moving image after rigid registration; 3rd column: registered region with the proposed method. And 4th column displays the overlapping of all three regions: coloured region is the HE region, blue line is the rigid registered region, black line is the final registered region.

registered HR WSI. **Figure 3** illustrates the effect of registration without color normalization and how color normalization corrects it.

The resultant HR WSI preserves the quality and fidelity of the physical slide and makes the method suitable for digital pathology analysis.

4. Results

30 different registrations from 9 different sets of WSIs were analyzed, each slide stained with a biomarker belonging to HE, Ki-67, ER, PR or Her2. The WSI stained with HE is used as reference image, and we registered the other four WSIs, stained with Ki-67, ER, PR and Her2, to this reference. To evaluate the registration quality, we have segmented three regions per slide where zones of pathological interest and structures for registration analysis have been masked. In **Figure 4**, we can observe three of these results extracted from the final registered slides. These samples show how our registration approximates better to the HE reference region thanks to the demons non-rigid algorithm, which allows the deformation of the region towards the reference position/size. When rigid registration achieves a correct alignment of the slides, our approach improves even more the alignment if it is possible.

To compare the improvement of the proposed system with a rigid registration, we have done a comparison between the overall proposal and the rigid registration used in the second step of the proposal. **Figure 5** shows this comparison. We have computed the intersection percentage between the reference image regions A, B, C and their counterpart in the moving image A', B', C' . Therefore, $A \cap A' = 100\%$ means that both regions are completely aligned. On the other hand, $A \cap A' = 0\%$ means that the registration has failed and no alignment has been done. As we can observe, the proposed rigid registration achieves the overlapping of regions in all the evaluations. Some difficult sections perform worse than the rest of the slides, as in the case of wsi6.1, wsi6.2 and wsi9.4, due to the bad quality of the extracted sections

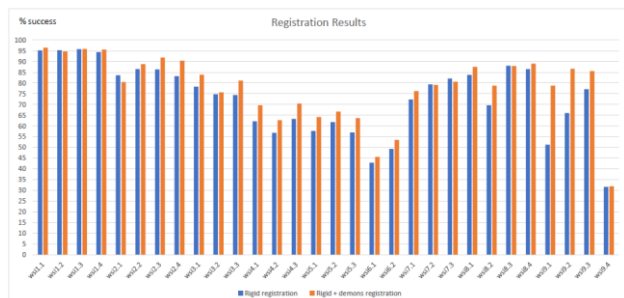


Figure 5 Rigid registration (blue bars) and Rigid + Demons registration (orange bars) results.

and the high differences present in serial sections. Rigid + deformable registration achieves an improvement of the registration results almost in all the slides. The magnitude of the improvement depends on several factors like how well rigid registration achieve to register both slides, and the quality of the samples analyzed.

When the slides are correctly extracted, but rigid registration cannot achieve a good percentage of alignment, demons algorithm helps to improve the results, as we can see in slides like wsi9.1, where the improvement reaches a 27%, or wsi9.2, wsi4.1, wsi4.3, wsi2.3, wsi2.4, wsi4.1 with significant improvements.

In situations where rigid registration achieves a correct alignment of the slides, non-deformable algorithm does not show a significant improvement, as we can see in wsi1.1, wsi1.2, wsi1.3 or wsi8.4. In wsi2.1, we can observe the only case where demons algorithm performs worse than rigid registration. In this slide, the poor stain and the lack of image contrast results in a 3% decrease of the rigid registration accuracy.

Averaging all the dataset results, the complete registration that we propose achieves an overall improvement of 4.88% over the rigid registration results. Regarding the computational cost, we have processed HR slides of 20k x 10k pixels using an Intel Xeon CPU ES-2690 with 2.90 GHz, 64 GB of RAM and 16 CPUs. Using our approach, with 10 CPU parallel processes to compute block-based demons registration, we compute the registration in 4.5 minutes. In order to compare the improvements in terms of computational performance, we have processed the same image at 20x magnification utilizing rigid and demons registration over the whole slide without any parallelization. The computational time obtained with this setup is 28 minutes. Therefore, our approach gives us a registration 6.22 times faster than working directly with HR WSI.

5. Conclusions

In this paper, we have presented a novel system for the registration of WSIs. Our proposal takes the most of both rigid and deformable registration to achieve an enhanced alignment of pathological slides. Since WSIs present difficulties to be processed, due to their size (order of GigaBytes), we perform first the registration at LR level (2x magnification), and then apply the transformations to the HR level (20x magnification). The strategy to deal with square blocks to speed up the non-rigid registration

step while keeping the quality of the demons alignment is also presented. The results show that the proposed method allows a correct registration between the WSIs, preserving the color and resolution fidelity with the original slides, while solving computational cost problems present in reference techniques.

Acknowledgements

This project has received funding from the European Union's FP7 programme under grant agreement no: 612471. (<http://aidpath.eu/>).

References

- [1] B. Zitova and J. Flusser, "Image registration methods: a survey," *Image Vis. Comput.*, vol. 21, no. 11, pp. 977–1000, 2003.
- [2] A. A. Goshtasby, *2-D and 3-D Image Registration: For Medical, Remote Sensing, and Industrial Applications*. Wiley-Interscience, 2005.
- [3] A. Sotiras, C. Davatzikos, and N. Paragios, "Deformable medical image registration: A survey," *Trans. on Med. Imaging*, vol. 32, no. 7, pp. 1153–1190, 2013.
- [4] Y. Mazaheri, L. Bokacheva, D.-J. Kroon, O. Akin, H. Hricak, D. Chamudot, S. Fine, and J. A. Koutcher, "Semi-automatic deformable registration of prostate mr images to pathological slices," *J. Magn. Reson. Imaging*, vol. 32, no. 5, pp. 1149–1157, 2010.
- [5] D. Mueller, D. Vossen, and B. Hulsken, "Real-time deformable registration of multi-modal whole slides for digital pathology," *Comput. Med. Imaging and Graph.*, vol. 35, no. 7, pp. 542–556, 2011.
- [6] X. M. Lopez, P. Barbot, Y.-R. Van Eycke, L. Verset, A.-L. Trepant, L. Larbanoix, I. Salmon, and C. Decaestecker, "Registration of whole immunohistochemical slide images: an efficient way to characterize biomarker colocalization," *JAMIA (J. Am. Med. Inf. Assoc.)*, no. 22, pp. 86–99, 2015.
- [7] Stefan Klein and Marius Staring and Keelin Murphy and Max A. Viergever and Josien P.W. Pluim, "elastix: a toolbox for intensity-based medical image registration," *Trans. Med. Imaging*, vol. 29, no. 1, pp. 196 – 205, January 2010.
- [8] O. Deniz, D. Toomey, C. Conway, and G. Bueno, "Multi-stained whole slide image alignment in digital pathology," in *Proc. Med. Imaging: Digital Pathol. SPIE Int. Society for Optics and Photonics*, 2015, pp. 94 200Z–94 200Z.
- [9] N. Trahearn, D. Epstein, I. Cree, D. Snead, and N. Rajpoot, "Hyperstain inspector: a framework for robust registration and localised coexpression analysis of multiple whole-slide images of serial histology sections," *Scientific Reports*, vol. 7, 2017.
- [10] J. Lotz, J. Olesch, B. Müller, T. Polzin, P. Galuschka, J. Lotz, S. Heldmann, H. Laue, M. Gonzalez-Vallinas, A. Warth et al., "Patch-based nonlinear image registration for gigapixel whole slide images," *Trans. Biomed. Eng.*, vol. 63, no. 9, pp. 1812–1819, 2016.
- [11] T. Vercauteren, X. Pennec, A. Perchant, and N. Ayache, "Diffeomorphic demons: Efficient non-parametric image registration," *NeuroImage*, vol. 45, no. 1, pp. S61–S72, 2009.
- [12] J.-P. Thirion, "Image matching as a diffusion process: an analogy with maxwell's demons," *Med. Image Anal.*, vol. 2, no. 3, pp. 243–260, 1998.
- [13] E. Reinhard, M. Adhikhmin, B. Gooch, and P. Shirley, "Color transfer between images," *Comput. Graph. and Appl.*, vol. 21, no. 5, pp. 34–41, 2001.
- [14] M. Styner, C. Brechbuhler, G. Szckely, and G. Gerig, "Parametric estimate of intensity inhomogeneities applied to mri," *Trans. Med. Imaging*, vol. 19, no. 3, pp. 153–165, 2000.

Ki67 Hot-Spots Detection on Histopathological Images of Breast Carcinoma using Convolutional Neural Networks

J. Gallego¹, Z. Swiderska-Chadaj², O. Deniz¹, G. Bueno¹

¹ VISILAB Group, Universidad de Castilla-La Mancha, E.T.S.I.I, Ciudad Real, Spain,

² Warsaw University of Technology, Faculty of Electrical Engineering, Warsaw, Poland

{Jaime.Gallego, Oscar.Deniz, Gloria.Bueno}@uclm.es

Abstract

Hot-spot detection and Ki67 labelling index evaluation in invasive breast cancer have a significant role in routine medical practice. The quantification of cellular proliferation assessed by Ki67 immunohistochemistry is an established prognostic and predictive biomarker which determines the choice of therapeutic protocols. In this paper, we present a deep learning based approach to automatically detect and quantify Ki67 hot-spot areas by means of the Ki67 labelling index. To this end, a dataset composed of 50 Ki67 whole slide images (WSI) belonging to 50 breast cancer cases was used. We propose to apply Convolutional Neural Networks (CNN), to achieve Ki67 regions classification, and create the tumor proliferation map by comparing hot-spot detection to manual diagnosis. The overall accuracy of this novel approach was 96%. Results show the suitability of this CNN-based approach for detecting hot-spots areas of invasive breast cancer in WSI.

1. Introduction

The revolution of deep learning techniques has also reached medical diagnosis and consequently to the study of both the diagnosis and the prognosis of cancer. The same happens in Histopathology with the advances of digital pathology where thanks to the digitization of the microscopic image, image processing and artificial intelligence techniques can already be applied for the diagnosis of cancer [1,2]. Automatic methods can assist pathologists in their task by offering automatic medical diagnosis meanwhile increasing accuracy.

Among the different tools used for studying cell functioning in oncology is the quantification of cellular proliferation. Data obtained from tumor samples may have therapeutic or prognostic impacts. In particular, proliferative activity assessed by Ki67 immunohistochemistry (IHC), is an established prognostic and predictive biomarker which determines the choice of therapeutic protocols, applied to breast cancer [3,4]. Tumor regions that exhibit high proliferating activity are called hot-spots.

The Ki67 index is evaluated in hot-spot areas, that is, the areas where there is a high immunopositive cell density inside tumor area. Ki67 index is calculated by pathologists as the ratio of immunopositive cells (brown cells) to all cancer cells (immunopositive and immunonegative cells) inside tumor area. The hot-spot

may be calculated manually with conventional microscopy reviewing the field of views (FOV) or automatically by review of whole slide images (WSI) using digital image processing.

Some attempts to automatically quantify Ki67 hot-spots have been recently reported in the literature. Lopez *et al.* [5] use agglomerative hierarchical clustering for identifying Ki67 hot-spots in WSI of brain tumor (high-grade gliomas). The clustering is applied on the brown channel after color deconvolution. Niazi *et al.* [6] use minimal graph cuts and multistate difference of Gaussians to detect the individual cells from images of Ki67-stained slides of neuroendocrine tumours.

Lu *et al.* [7], use adaptive filtering to automatically detect Ki67 hot-spot in adrenal cortical carcinomas. The method was tested in 50 WSI and compared to manual scoring. Swiderska *et al.* [8] applied textural and morphological features with support vector machine classifier for automatic hot-spot selection in Ki67 stained meningiomas specimens. Laurinavicius *et al.* [4] and Plancoulaine *et al.* [9] use methods based on stereology to assess Ki67 expression in WSI of 152 surgically removed Ki67-stained breast cancer specimens. They perform a subsampling of the data into a hexagonal tiling (HexT) arrays from which a set of texture and indicators such as entropy may be calculated for the Ki67 variability analysis and hot-spot detection by means of the statistical analysis of those indicators.

Valous *et al.* [10] applied a second order statistical feature, called lacunarity, to deal with the quantification of spatial intratumoral heterogeneity of Ki67 expression.

Pilutti *et al.* [11] applied an adaptive thresholding together with a cellularity analysis to automatically identify hot-spot areas over Ki67 stained breast cancer biopsies. 82% of the gold standard hot-spots was successfully recognized by the method. The drawback of these methods is that they are parameter-dependant and cannot be easily tuned for non-homogeneous staining which may vary the hot-spot densities.

The method proposed in this paper makes use of convolutional neural networks (CNN) to detect and characterize Ki67 hot-spots in breast cancer WSI. As far as the authors know this is the first time that the deep learning approach is reported for the detection and

quantification of Ki67 hot-spots. This method solves the problem of feature selection. The average accuracy obtained was 96%. The developed methodology can be used for other tumors where the detection of Ki67 hot-spots and the quantification of a proliferation index is relevant.

The remainder of the paper is organized as follows: Description of the database used is given in Section 2. Section 3 describes the proposed method based on CNNs for the detection of Ki67 hot-spots. Finally, obtained results and conclusions are presented in Section 4 and Section 5 respectively.

2. Materials

This study involved digital slides from the AIDPATH breast cancer database (<http://aidpath.eu/>). It is composed of breast tissue cohorts from four different institutions and pathology labs around Europe, including Spain, Italy and Lithuania. The dataset is formed of samples extracted by expert pathologists from incisional biopsies, with the objective to detect potential cancer regions and its proliferation factor. It comprises 50 breast cancer specimens stained with Ki67/MIB-1 antibody (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride, DAB marker, brown color) and counter-stained with hematoxylin (blue).

The slides were prepared serially, using Formalin-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE) tissue sections with 4 μm of thickness. Ki67 stain have been applied to each sample using the systematic pathological process defined by the highest quality standards.

2.1. Slide Digitization

The slides were digitized using Aperio Scanscope CS (Leica Biosystems) whole-slide scanner at 20x and 40x magnification. The area of tissue in a field of view (FOV) at 40x is 0.037mm², which results a size of 1424x1064 pixels at 40x and 712x532 pixels at 20x.

To reduce the time and effort required to manipulate the digital slides, create the ground truth annotations and the computational processing, we worked at 20x magnification. Therefore, the WSI acquired at 20x magnification have been analysed in full resolution, while slides acquired at 40x magnification have been down-sampled by a factor of 2. Depending on the size of tissue fixed on the slide, digital slides range between 0.5GB to 2GB.

One example of digitized WSI for Ki67 stain is shown in **Figure 1**.

2.2. Database creation

Each WSI was reviewed by expert pathologists to generate the ground truth annotations for hot-spot (Ki67) localization areas. Pathologists annotated the hot-spot regions, and, accordingly, evaluated the Ki67 proliferation index of the WSIs. With this information, we created the database automatically by computing the index proliferation of each tile using the automatic cells detector developed by Markiewicz *et al.* [13].

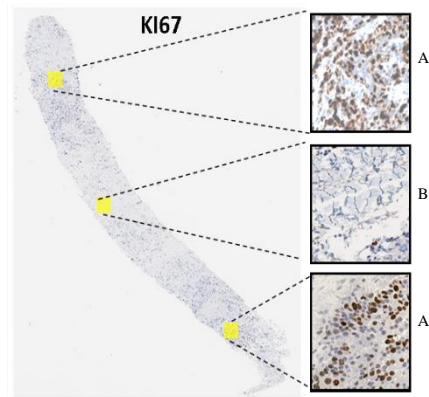


Figure 1 Example of WSI stained Ki67. A- area with hot-spot on the Ki67 image, B- area without tumor. Immunopositive cells are marked by brown and immunonegative cells are marked by blue.

Pathologists annotations were done with the Aperio ImageScope software.

In order to create the database, the annotated areas are divided into 512x512 non-overlapping pixel image tiles. These Ki67 tiles are shared into 11 classes:

- Non tumor areas.
- Lymphocytes: are added to this analysis to avoid the false positive regions generated by its high proliferation.
- 9 classes with tumor areas: The tumor areas have been shared into 9 groups based on tumor proliferation factor, which has been calculated as ratio between immunopositive cells (brown cells) and all tumor cells (brown and blue cells). The detection of all tumor cells (brown and blue cells) is performed by means of the cell detector developed by Markiewicz *et al.* [13].

Figure 2 shows a tile sample for each of the classes.

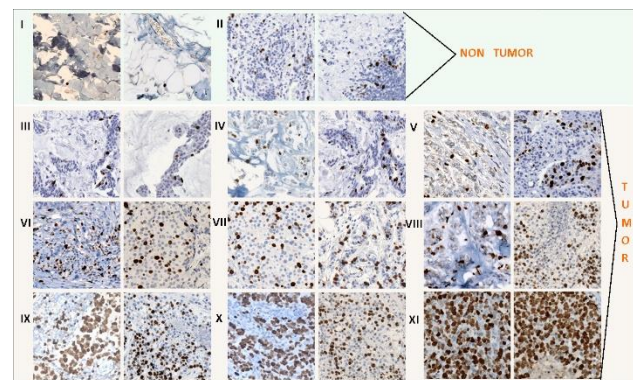


Figure 2 Example of tiles for each class. I, no tumor class. II, lymphocytes. III-IX, tumor.

Augmentation procedures are applied on the training data to increase the number of samples and the data variety for each class, which is known to enhance the network classification accuracy. The following methods were applied: color modification, 90° rotation, flip up and Gaussian blurring. Color modification has been performed with Reinhard's method [14]. For each staining, we use four color patterns corresponding to the different sites or institutions from where the databases come from. In order to achieve a similar number of tiles

in each class, for classes with much less data (such as lymphocytes), we applied additional data augmentation, which includes: 45° rotation, flip up and Gaussian blurring. Finally, data extracted from WSIs and augmented results in 210,312 training tiles. For testing we have used 25,264 tiles.

231 training tiles. For testing, we have used 25,264 tiles.

3. Method

We propose to obtain tumor proliferation map for each WSI under analysis by using Deep Learning CNN. The proposal follows a three-step work-flow: i) Tissue area segmentation, ii) Hot-spot detection and iii) Resultant tumor proliferation map. The workflow of this method is depicted in **Figure 3**.

3.1. Tissue area segmentation

Tissue segmentation is the first step in WSI analysis. It allows to limit the region under analysis, thus reducing the computational time. A basic background segmentation based on color histogram analysis is done to detect the WSI tissue regions.

3.2. Ki67 CNN Hot-spot detection

Hot-spot detection is central to achieve the correct tumor proliferation index. We use Ki67 data to train a CNN to detect hot-spot areas on the WSI. There are two main processes involved in this step: CNN model training and patch-based WSI classification.

3.2.1 CNN model training

The CNNs are set up using the AlexNet model [15]. This CNN has eight layers of neurons: five convolutional and three fully-connected. We apply the full training and fine-tuning (FT) methods to the training process. FT is one of the transfer learning techniques based on transferring the features and the parameters of the network from a broad domain to the specific one. The re-training operation allows for optimization of the network to minimize the error in the other, more specific domain. In a case of FT, the CNN model was fine-tuned by modifying the network weights and by trimming the number of outputs in the last layer.

The full training process has been performed with the MatConvNet environment. The CNN model returns a vector with class scores representing the affinity of the image to each of the predefined classes. Classification of image tiles by the CNN is computed by finding the maximum class score for each tile. Finally, classification results from all tiles were saved as an image that had the same size as the full resolution WSI.

3.2.2 Patch-based WSI classification

The network classifies each tile into one of the 11 classes: no tissue, lymphocytes and 9 class of tumor ranging from low to high proliferation index. High value of tumor class implies high tumor proliferation index, and this defines the hot-spot areas, by selecting the regions classified as high tumor density.

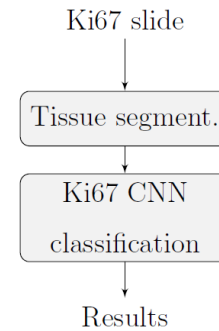


Figure 3 Workflow for hot-spot detection using Ki67 data with CNN. Ki67

4. Results

We performed a complete evaluation of the proposed study for automatic WSI Ki67 hot-spot detection. The goal of medical doctors is to select only a few hot-spot areas in WSI, while the automatic evaluation can detect a significantly higher number of these regions. The proposed methods allow to create a proliferation index map. **Figure 4**, shows results of automatic hot-spot detection in two specific samples. High tumor proliferation areas have been marked by red (dark red), whereas area with low tumor proliferation is marked by yellow.

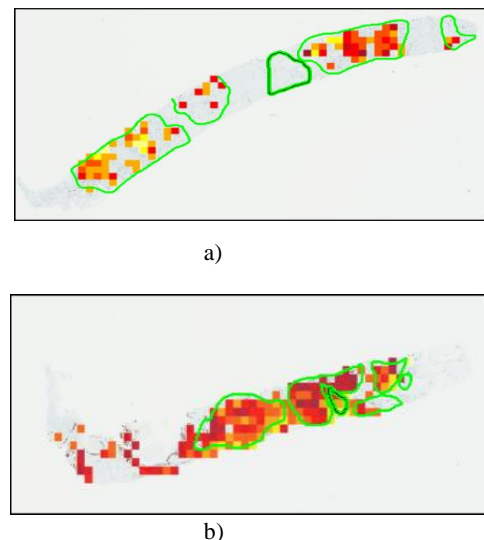


Figure 4 Automatic tumor proliferation map examples. In Green, manual annotations made by medical doctors. In yellow-red scale, automatic regions classification.

We can observe how detected hot-spot regions match with manual pathologists' annotations. In Figure 4a, false negative detections appear in a region with too low density of cancer cells. In Figure 4b, false positive regions appear in a region where cancer cells are not infiltrating, but in-situ. These regions are not considered by pathologists in the specimen analysis.

Quantitative analysis has been performed by computing the classification accuracy. To perform the testing, we used 25,264 tiles not used in the training process. The average accuracy results are shown in **Table 1**. In this

table, we consider a binary detection between Non-tumor (classes I and II) and Tumor (classes III to IX).

Accuracy	Sensitivity	Specificity
96%	47%	98%

Table 1 Average values of statistical results of tiles classification (N=25,264).

The results confirm correct tile detection, with 96% of accuracy, but confused classification between adjacent classes results in a decrease of sensitivity to a 47%.

Table 2 shows confusion matrix for the classification within different tumor groups (low, medium and high tumor proliferation). The analysis of the confusion matrix shows that non-tumor regions are correctly classified, meanwhile, the rest of the classes present some confusion with other adjacent tumor proliferation classes. This is due to the similarity between adjacent classes, which is important but not decisive for medical diagnosis. The one that can be considered as central for pathologists is that lymphocytes are not correctly classified. This is important because the presence of lymphocytes means that the patient is reacting against tumor, and must not be wrongly classified as a false positive hot-spot. The main reason is the similarity between lymphocytes and cancer cells, which leads us to consider that Ki67 data could not be enough to achieve this differentiation.

no tumor		tumor proliferation [%]									
no tumor	lympho cytes	low		medium		high					
		0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	60-70	70-80	>80	
1,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,00	0,00	0,04	0,00	0,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,60	0,20
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,02	0,00	0,03	0,34	0,54	0,06	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,02	0,00	0,01	0,05	0,55	0,20	0,10	0,01	0,01	0,01	0,01	0,03
0,02	0,00	0,00	0,00	0,14	0,39	0,17	0,18	0,06	0,01	0,01	0,03
0,01	0,00	0,00	0,00	0,05	0,11	0,33	0,34	0,06	0,05	0,05	0,05
0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,02	0,13	0,51	0,20	0,07	0,05	0,05
0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,03	0,16	0,32	0,35	0,13	0,13
0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,10	0,34	0,51	0,01	0,01
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,10	0,88	0,00

Table 2 Confusion matrix for tiles classification (N=25,264)

5. Conclusions

In this paper, we have presented a method for breast cancer hot-spot detection on Ki67 WSI. It is based on CNN regions classification between 11 classes: non-tumor, lymphocytes and 9 tumor classes ranging according to tumor proliferation.

Our study shows that hot-spot maps are correctly computed close to the medical doctors' analysis, achieving 96% of accuracy. Due to the similarity between tumoral adjacent classes, the sensitivity of this proposal is 47%. This confusion can be difficult to correct in samples located at the boundaries between classes, but can be improved in the case of lymphocytes, where more data involving other stains could be necessary to correctly detect them.

Therefore, in this paper we have shown that automatic diagnosis based on CNN allows to develop an efficient

tool to support Ki67 evaluation in breast cancer specimens.

Acknowledgements

This work is partially founded by the EU FP7 Program, AIDPATH project, grant number 612471.

References

- [1] G. Bueno, M. Fernandez-Carrobles, O. Deniz, M. Garcia Rojo, New trends of emerging technologies in digital pathology, Pathobiology 83 (2016) 61-69
- [2] G. Litjens, C. Sanchez, N. Timofeeva, et al., Deep learning as a tool for increased accuracy and efficiency of histopathological diagnosis, Scientific reports 6 (2016) 26286.
- [3] T. Khoury, G. Zirpoli, S. M. Cohen, et al., Ki-67 expression in breast cancer tissue microarrays assessing tumor heterogeneity, concordance with full section, and scoring methods, American Journal of Clinical 474 Pathology 148 (2) (2017) 108-118
- [4] A. Laurinavicius, B. Plancoulaine, A. Rasmusson, et al., Bimodality of intratumor ki67 expression is an independent prognostic factor of overall survival in patients with invasive breast carcinoma, Virchows Archiv 468 (4) (2016) 493-502.
- [5] X. Lopez, O. Debeir, C. Maris, et al., Clustering methods applied in the detection of ki67 hot-spots in whole tumor slide images: An efficient way to characterize heterogeneous tissue-based biomarkers, Cytometry Part A 81A (9) (2012) 765-775.
- [6] M. Khan Niazi, M. Yearsley, X. Zhou, F. WL., G. MN., Perceptual clustering for automatic hotspot detection from ki-67-stained neuroendocrine tumour images, Journal of Microscopy 256 (3) (2014) 213-225.
- [7] H. Lu, T. G. Papatomas, D. van Zessen, et al., Automated selection of hotspots (ash): enhanced automated segmentation and adaptive step finding for ki67 hotspot detection in adrenal cortical cancer, Diagnostic Pathology 9 (1) (2014) 216.
- [8] Z. Swiderska, A. Korzynska, T. Markiewicz, et al., Comparison of the manual, semiautomatic, and automatic selection and leveling of hot spots in whole slide images for ki-67 quantification in meningiomas, Analytical Cellular Pathology 2015 (498746) (2015) 15.
- [9] N. Elie, B. Plancoulaine, J. Signolle, P. Herlin, A simple way of quantifying immunostained cell nuclei on the whole histologic section, Cytometry Part A 56A (1) (2003) 37-45.
- [10] N. A. Valous, B. Lahrmann, N. Halama, et al., Spatial intratumoral heterogeneity of proliferation in immunohistochemical images of solid tumors, Medical Physics 43 (6 Part1) (2016) 2936-2947.
- [11] R. Paulik, T. Micsik, G. Kiszler, et al., An optimized image analysis algorithm for detecting nuclear signals in digital whole slides for histopathology, Cytometry Part A 91 (6) (2017) 595-608.
- [12] D. Pilutti, V. Della Mea, E. Pegolo, F. La Marra, F. Antoniazzi, C. Di Loreto, An adaptive positivity thresholding method for automated ki67 hotspot detection (akhod) in breast cancer biopsies, Computerized Medical Imaging and Graphics.
- [13] T. Markiewicz, S. Osowski, J. Patera, W. Kozłowski, Image processing for accurate cell recognition and count on histologic slides, Analytical and quantitative cytology and histology 28 (5) (2006) 281-291.
- [14] E. Reinhard, M. Adhikhmin, B. Gooch, P. Shirley, Color transfer between images, IEEE Computer graphics and applications 21 (5) (2001) 34-41.
- [15] A. Krizhevsky, I. Sutskever, G. E. Hinton, Imagenet classification with deep convolutional neural networks (2012) 1097-1105.

Contaje de mitosis en imágenes histológicas mediante redes neuronales convolucionales

J.P. Salado García¹, A. Picón Ruiz², A. Bereciartua Pérez², U. Irusta Zarandona¹

¹ Departamento de Ingeniería de Comunicaciones, UPV-EHU, Bilbao, SPAIN, unai.irusta@ehu.eus

² TecNALIA Research & Innovation, Computer Vision Area, Parque Tecnológico de Bizkaia, Derio, 48160 SPAIN
{artzai.picon, aranzazu.bereciartua}@tecnalia.com

Resumen

El diagnóstico último del cáncer se realiza por los patólogos mediante el análisis de imágenes histológicas. Uno de los marcadores más importantes en el pronóstico y detección temprana del mismo es el denominado grado de proliferación, que se estima mediante el contaje de figuras mitóticas en imágenes histológicas tintadas con hematoxilina y eosina. Los patólogos realizan este contaje de mitosis de manera manual. Este proceso es costoso y subjetivo, existiendo discrepancias entre los expertos. En los últimos años, el aumento de microscopios escáneres ha permitido la digitalización de las muestras histológicas y su posterior procesamiento. En este trabajo se presenta un método para el contaje automático de mitosis en imágenes histológicas. Este método comprende dos fases: 1) selección de regiones candidatas a mitosis basada en técnicas convencionales de procesamiento de imagen; 2) clasificación mediante Redes Neuronales Convolucionales y técnicas de Deep Learning. El método ha sido validado sobre una base de datos con 656 casos, y se ha obtenido una sensibilidad de 0.617 y un valor de F1 de 0.541 en consonancia con el estado del arte.

1. Introducción

El cáncer representa una de las causas más elevadas de mortalidad. El diagnóstico del mismo se realiza mediante el análisis de imágenes histológicas por los patólogos. El grado de proliferación es un marcador relevante para el pronóstico y detección temprana del mismo. Este valor se estima mediante el contaje de figuras mitóticas en imágenes histológicas tintadas con hematoxilina y eosina (H&E). Este proceso, que los patólogos realizan manualmente, es laborioso y subjetivo. El auge de la patología digital, con sus potentes microscopios escáneres, ha posibilitado la digitalización de las muestras histológicas, su posterior procesamiento automático y la aparición de herramientas de soporte al diagnóstico que ayuden a los clínicos en las tareas de su práctica diaria, como el contaje de mitosis.

Existen en el estado del arte algunas aproximaciones al problema [1-3], basadas principalmente en la aplicación del proceso clásico de análisis de imagen: pre-procesamiento, extracción de características de color, textura o forma, y clasificación por diversas técnicas. Los resultados obtenidos tienen baja precisión y se han obtenido sobre un número de imágenes pequeño. La caracterización inequívoca de mitosis es compleja por varias causas. Por una parte, no presentan una forma única

al poder presentarse en 4 fases diferentes (profase, metafase, anafase y telofase). Además, existen en el tejido otros elementos de apariencia similar, tales como los linfocitos. La categorización de cada figura como mitosis o no es compleja, tal y como se muestra en la figura 1. De hecho, existen discrepancias entre los patólogos expertos.

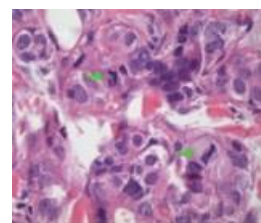


Figura 1. Ejemplo de mitosis (con flecha verde) en imagen histológica junto con otros elementos visualmente similares

En los últimos años se han popularizado técnicas basadas en redes neuronales convolucionales (CNN) integradas dentro de arquitecturas profundas, es lo que se denomina Deep Learning. Estas arquitecturas permiten una extracción de características en las primeras capas y una adaptación de las mismas por parte del clasificador final de forma simultánea imitando en cierta forma al sistema visual humano. Así, se han resuelto problemas de clasificación, detección y segmentación de imágenes hasta ahora irresolubles, obteniendo arquitecturas con una capacidad de generalización mayor de la existente hasta ahora. Se han identificado algunas aplicaciones de esta tecnología a la detección de mitosis [4-5], que mejoran los resultados obtenidos por métodos clásicos. En esta línea, se presenta un nuevo método para la detección automática de figuras mitóticas en imágenes histológicas, que pretende añadir rapidez y precisión.

2. Materiales y métodos

El método propuesto realiza el contaje automático de mitosis en imágenes histológicas tintadas con H&E. El método parte de la imagen digital de la muestra histológica y devuelve la posición de cada mitosis detectada en la imagen. Se describen en este apartado la base de datos de imágenes disponible y el detalle del algoritmo desarrollado.

2.1. Base de datos de imágenes

Para el desarrollo de los algoritmos supervisados de detección de mitosis es imprescindible disponer de bases

de datos de imágenes histológicas con anotaciones de mitosis realizadas por clínicos expertos. Para este trabajo se partió de las imágenes del Tumor Proliferation Assessment Challenge 2016 (TUPAC16) [6], que en 2016 puso a disposición de la comunidad científica un conjunto de imágenes histológicas de H&E de mama con las mitosis identificadas. Cada una de las figuras mitóticas fue consensuada por, al menos, dos expertos patólogos. Esta base de datos cuenta con 656 muestras histológicas digitalizadas por microscopios Leica SCN400 a una escala de 40x. Dichas muestras provienen de 73 pacientes y 3 instituciones sanitarias diferentes. Se dispone de 1552 mitosis anotadas. Las imágenes están representadas por píxeles de 256 niveles, 8 bits por canal y pueden llegar a tener 5657x5657 píxeles.

Uno de los problemas para procesar las imágenes histológicas es su gran tamaño. Es por tanto necesario establecer estrategias en el procesamiento para trabajar sobre imágenes de menor tamaño y proporcionar una respuesta rápida.

2.2. Descripción del algoritmo

Se ha desarrollado un algoritmo con dos etapas. Por una parte, cuenta con una etapa de procesado de imagen basado en técnicas convencionales de visión artificial. En esta etapa inicial se reduce la dimensionalidad del problema, para ello de la imagen histológica inicial se obtiene un conjunto de sub-imágenes candidato con potenciales mitosis. Estas imágenes candidatas son regiones de 80x80 píxeles que comparten ciertas semejanzas con figuras mitóticas reales. En la segunda etapa, un clasificador basado en CNN determina cuáles de ellas se tratan realmente de figuras mitóticas. Reducir la dimensionalidad del problema reduce el tiempo de procesamiento de las imágenes. La figura 2 recoge el esquema del método desarrollado.

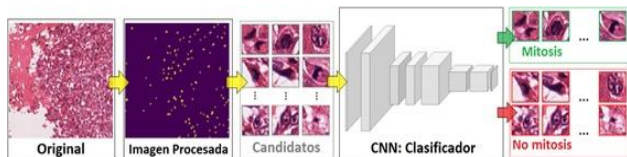


Figura 2. Esquema general del método de conteo de mitosis

2.2.1. Procesamiento inicial. Selección de candidatos

El proceso de extracción de candidatos se muestra en las primeras 3 etapas de la figura 2, y se detalla a continuación.

La selección de candidatos se ha basado en la discriminación de aquellos elementos en la imagen que presentan un color similar a los elementos mitosis. Dada la variabilidad de forma de las mitosis, debido, entre otras, a la posibilidad de estar en 4 fases diferentes, la caracterización de las mismas por descriptores de forma no parece discriminante con respecto a los otros elementos que pueden aparecer en la imagen. Sin embargo, aún en distinta fase, las mitosis siempre presentan el mismo tono. Se ha trabajado con una transformación de espacios de color. En esta etapa inicial, se parte de la imagen histológica digitalizada original en la que el tinte de H&E permite resaltar las características morfológicas. A partir

de la imagen RGB se obtiene una imagen en el espacio HED (Hemoglobina, Eosina, Diaminobencidina) mediante técnicas de deconvolución de [7]. En los canales H y E las diferencias morfológicas entre los elementos celulares se maximizan. Se trabaja con dichos canales a partir de este momento. En el canal H se identifican las zonas que comparten el mismo tono que las mitosis. En el canal E se visualiza el resto de tejidos musculares que no son mitosis. El proceso para ambos canales se detalla a continuación, y se muestra visualmente en la figura 3.

Se aplica un umbralizado sobre el canal E para destacar todas las estructuras no mitóticas (columna R.aum). Al canal H, se le resta el resultado de esta imagen umbralizada para obtener una imagen con las posibles mitosis más contrastadas (columna H-(R.aum)). A continuación, se realiza una operación de umbralizado (umbral de 0.7), seguida de operaciones morfológicas de erosión y de dilatación de kernel 3x3 para eliminar falsos candidatos. Como salida de esta secuencia de acciones se obtiene un número reducido de candidatos. El método detecta 1503 de las 1.552 mitosis anotadas (97%), pero se obtienen 174 candidatos por mitosis real. En la figura 3, se muestra el proceso detallado sobre los canales H&E.

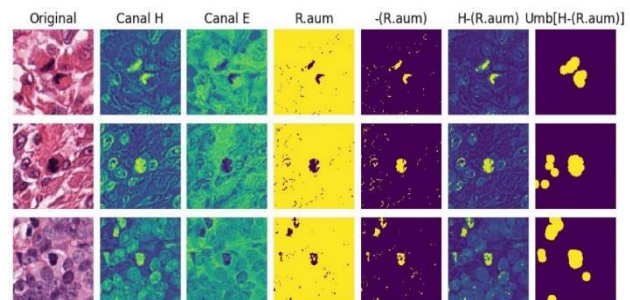


Figura 3. Proceso detallado de selección de candidatos.

2.2.2. Clasificación mediante CNN

Tras la detección de potenciales candidatos se dispone de una base de datos de 1503 verdaderos candidatos y 260.964 falsos candidatos, en imágenes de 80x80 píxeles como las mostradas en la figura 4. La detección de mitosis se plantea como un problema de detección supervisada para el que se ha diseñado un algoritmo basado en CNN.

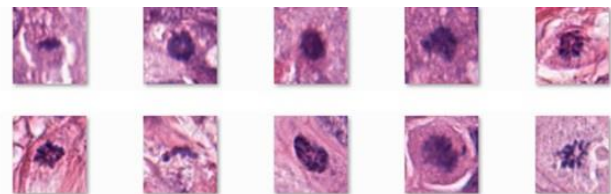


Figura 4. Imágenes de la base de datos de entrenamiento (todas son mitosis)

En los datos existe un gran desequilibrio entre las clases positiva y negativa. Para aminorar el efecto del mismo en el entrenamiento del clasificador se aumentó el número de verdaderos positivos aplicando transformaciones geométricas (rotaciones, cambios de escala, ...). Se detalla este proceso en el apartado 2.2.3 donde se describe el subconjunto de entrenamiento.

El modelo de red escogido para el clasificador tiene una estructura basada en el modelo Lenet [8] con tres bloques convolucionales compuestos cada uno de ellos por una capa convolucional inicial, una capa de activación basada en ReLU y una capa de *pooling* o muestreo actuando como un bloque de extracción de características. Se han escogido tamaño de filtros convolucionales de 3x3, siendo el número de filtros calculados de 32, 64 y 64 en cada uno de los tres bloques convolucionales. La salida de esta red alimenta una etapa de clasificación densa basada en una red perceptrón. La figura 5 muestra la arquitectura de red elegida.

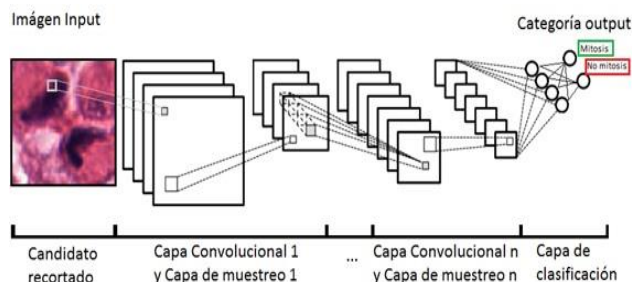


Figura 5. Arquitectura de red basada en modelo Lenet

Finalmente, cada canal de las imágenes se estandariza a la entrada de la red CNN, obteniendo en cada canal un conjunto de valores de píxeles de media 0 y desviación estándar 1.

2.2.3. Subconjuntos de entrenamiento/validación

Para el desarrollo del clasificador se partitionaron los candidatos en tres subconjuntos: entrenamiento (80%), validación (10%) y test (10%), reservando el subconjunto de test únicamente para reportar los resultados. La partición se hizo por pacientes, 73 pacientes divididos en 54/8/9, pero procurando respetar las proporciones (80/10/10) también en lo referido al número de candidatos y al número de mitosis en cada subconjunto. Así el número de recortes por subconjunto y tipo (mitosis/no mitosis) fue de: 908/202667 para entrenamiento, 220/29511 validación y 375/28786 test.

Para solucionar el desequilibrio entre clases en la base de datos, se ha realizado un entrenamiento por lotes equilibrados, de manera que a cada clase "mitosis" alimentada le sigue una clase "no-mitosis". Tras la alimentación de la red con las primeras 908 parejas, dichos 908 recortes originales de la clase "mitosis" se ordenan aleatoriamente y cada una de ellas se modifica mediante una aplicación sucesiva, y en orden aleatorio, de distintas operaciones morfológicas como escalado, desplazamientos, rotaciones y desdoblamientos. Se prosigue con la alimentación equilibrada con este nuevo lote de parejas equilibrado. La operación de reordenado y *data augmentation* de la lista perteneciente a la clase "mitosis", se realiza en múltiplos de 908, hasta finalizar con las 202.667 imágenes de la clase "no mitosis". De esta forma, se ha entrenado la red con el mismo número de elementos de ambas clases.

Para el entrenamiento y validación de la CNN se diseñaron 48 experimentos con diferentes configuraciones para el

aprendizaje. Estas configuraciones para la optimización de la red pretendían valorar los siguientes criterios:

- La representación de las imágenes en diferentes espacios de color.
- La normalización previa de cada canal de las imágenes (media 0 y desviación estándar 1)
- Diferentes métricas de penalización en el aprendizaje.
- Diferentes rangos de *learning rates* o tasas de aprendizaje.

Las conclusiones extraídas fueron:

- La representación de la información en el espacio RGB originales aporta mejor resultado que su descomposición en los canales H&E.
- *Learning Rates* iniciales mayores, dotan de mayor mutabilidad a la red, proporcionando mejores resultados.
- La métrica de penalización que contribuyó a los mejores resultados es la pérdida de precisión.
- La normalización de los canales es relevante.

Los pesos de la red fueron entrenados siguiendo el método de descenso de gradiente estocástico con una tasa de aprendizaje inicial de 0.001 y un decaimiento de 10^{-5} minimizando una función de coste definida por la entropía cruzada entre las dos clases.

2.2.4. Evaluación

Al tratarse de un problema de clasificación binario (presencia de mitosis) se evaluó el desempeño del clasificador mediante una matriz de confusión 2x2. Y se emplearon como métricas de desempeño la sensibilidad (Se), valor predictivo positivo (VPP) y el F-score, la media armónica de la Se y el VPP. Se calcularon también la especificidad (Sp), el valor predictivo negativo (VPN) y la precisión (Acc) de la etapa de clasificación.

Los resultados finales se ajustaron para reflejar el efecto de la etapa de visión artificial en la que se detectan 1503 de las 1552 mitosis. Esto afecta a los valores finales de Se y F-score, que se refieren siempre al conjunto total de mitosis disponibles a la entrada.

3. Resultados

Considerando la etapa de clasificación de forma aislada se obtuvieron unos valores de $Se=0.632$, $PPV=0.482$ y $F-score=0.547$. Estos valores son bajos debido a que el ratio de falsos positivos por verdaderos positivos a la entrada al clasificador es de aproximadamente 174/1. Por ello, a pesar de los bajos valores de Se y PPV se detectaron correctamente un 98.6% de los 29161 recortes, es decir con un $NPV=0.992$ y una $Sp=0.991$. Así, se obtuvo un clasificador basado en CNN muy preciso incluso para la clase positiva (Se), a pesar del sesgo hacia la clase negativa de los datos de entrada. Cuando los resultados fueron ajustados por las mitosis no detectadas en la etapa de visión artificial, se obtuvo una $Se=0.617$, $PPV=0.482$ y $F-score=0.541$.

A modo de referencia se muestran en la tabla 1 de resultados obtenidos por distintos grupos en el reto

TUPAC16 [6]. Los resultados obtenidos son comparables con los del estado del arte, situándose en el rango medio alto de las soluciones propuestas en el reto, algunas de las cuales emplearon datos adicionales (ver [6]).

Equipo	F1-score
Lunit Inc., Korea	0.652
IBM Research Zurich and Brazil	0.648
ContextVision, Sweden	0.616
The Chinese University of Hong Kong	0.601
Microsoft Research Asia, China	0.596
Radboud UMC, The Netherlands	0.541
The proposed method, Spain	0.541
University of Heidelberg, Germany	0.481
University of South Florida, United States	0.44
Pakistan Institute of Engineering and Applied Science	0.424
University of Warwick, UK	0.396
Shiraz University of Technology, Iran	0.33
Inha university, Korea	0.251

Tabla 1. Comparativa de resultados con algunos grupos participantes en TUPAC Challenge 2016.

Finalmente se evaluó el tiempo de computación total necesario para el conteo de mitosis. Sobre una imagen tipo de 2500x2500 píxeles en una máquina compuesta por 12 procesadores Intel-Xeon, 128GB, el algoritmo tarda de media 0.9 segundos en el procesamiento de una imagen.

4. Conclusiones y discusión

Este trabajo presenta un método para el conteo automático de mitosis en imágenes histológicas teñidas con H&E. El método consta de dos etapas: 1) extracción de candidatos a mitosis por métodos convencionales de procesamiento de imagen; 2) clasificación de las regiones candidatas en mitosis mediante un clasificador basado en Redes Neuronales Convolucionales. El método propuesto tiene precisiones comparables a los obtenidos por los algoritmos más avanzados presentados en la competición TUPAC-16, y permite obtener el conteo de mitosis sobre imágenes pesadas de histología en tiempos de procesamiento cortos.

El abordaje planteado se basa en una primera etapa de visión artificial que reduce considerablemente la dimensionalidad del problema, reduciendo los tiempos de procesamiento. Esto supone una ventaja importante, ya que permitiría al clínico disponer de los resultados casi inmediatamente, con precisiones similares a las de los algoritmos más avanzados. Actualmente los clínicos dedican entre 5-10 minutos en un caso típico, y los resultados de anotación dependen considerablemente del clínico (subjetividad) [2].

A pesar de que el sistema completo presenta ya una precisión aceptable, se plantean varias líneas de trabajo futuras. La primera es la mejora de la etapa de procesamiento de imagen para manteniendo valores similares de sensibilidad reducir el número de candidatos falsos por mitosis. Esta es precisamente la mayor limitación del algoritmo, ya que a pesar de disponer de un clasificador CNN con una $Sp=0.991$ el número de falsos positivos (255) fue similar al de verdaderos positivos (237). Para ello se estudiarán en el futuro distintos abordajes para la obtención de los canales H y E de las imágenes RGB, así como algoritmos de procesamiento morfológico de imagen más elaborados. Otra línea de mejora del método consiste en considerar otras arquitecturas de red para clasificador, como son las redes neuronales pre-entrenadas.

Este trabajo tiene dos limitaciones. La primera es que se ha trabajado con un número de imágenes y pacientes limitado. Algunos abordajes del TUPAC-16 reportaron mejores resultados en parte gracias al uso de un mayor número de ejemplos. La segunda limitación es que no se ha planteado un proceso de optimización conjunto de las etapas 1 y 2, ya que el tiempo necesario para entrenar las CNN lo impide.

Referencias

- [1] Irshad H. Automated mitosis detection in histopathology using morphological and multi-channel statistics features. *Journal of Pathology Informatics*. Vol 4, issue 1, pp 10-18, 2013.
- [2] Mitko MA. Assessment of Mitosis Detection Algorithms. MICCAI Grand Challenge 2013: <http://amida13.isi.uu.nl/> (Consultado: Mayo de 2017)
- [3] Mitko P. Assessment of Mitosis Detection Algorithms. AMIDA13 | MICCAI Grand Challenge. Mitko Veta. doi:10.1016/j.media.2014.11.010, 2013
- [4] Malon CD, Cosatto E. Classification of mitotic figures with convolutional neural networks and seeded blob features. *Journal of Pathology Informatics*. Vol 4, issue 9, 2013. DOI: [10.4103/2153-3539.112694](https://doi.org/10.4103/2153-3539.112694)
- [5] Dan C., Cireş AG. Mitosis Detection in Breast Cancer Histology Images with Deep Neural Networks. *International Conference on Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention*. pp 41-418, 2013.
- [6] Página web del Tumor Proliferation Assessment Challenge 2016 | MICCAI Grand Challenge. <http://tupac.tueimage.nl/> (Consultado: Mayo 2017)
- [7] Ruifrok AC, Johnston DA. Quantification of histochemical staining by color deconvolution. *Analytical and quantitative cytology and histology*. Vol 23, issue 4, pp 291-299, 2001.
- [8] Le Cun Y, Bottou L, Bengio Y, Haffner P. Gradient-based learning applied to document recognition. *Proceedings of the IEEE*, Vol 86, issue 11, pp. 2278 – 2324, 1998. (ISSN: 1558-2256)

Desarrollo de un algoritmo de segmentación para la detección de diferentes componentes tisulares para la valoración de daño hepático.

A. Rodríguez Ortega¹, A. Ten Esteve¹, J. Pérez Rojas², Á. Alberich-Bayarri^{1,3}, L. Martí-Bonmati^{1,4}

¹ Grupo de Investigación Biomédica en Imagen (GIBI2³⁰), Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia, España.

² Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario y Politécnico de La Fe, Valencia, España.

³ Quantitative Imaging Biomarkers in Medicine, Quibim SL, Valencia, España.

⁴ Servicio de Radiología, Hospital Universitario y Politécnico de La Fe, Valencia, España.

Resumen

Introducción: Los últimos avances tecnológicos en el campo de la anatomía patológica (aparición de escáneres más potentes que digitalizan con una gran resolución tejidos patológicos) junto con los avances en el procesamiento digital de imagen, ofrecen la posibilidad de implementar nuevas herramientas de procesamiento de imagen que permitan a los patólogos obtener diagnósticos más objetivos, precisos y fiables. Objetivos: Desarrollar una herramienta capaz de segmentar imágenes patológicas de tejido hepático a fin de detectar la cantidad de fibrosis, hierro e inflamación de una muestra escaneada. Metodología: Tras la tinción de las muestras de parénquima hepático y su adecuado escaneo, se procesaron mediante la aplicación de un algoritmo de segmentación basado en color, haciendo uso del método de agrupación K-means. Resultados: Los resultados obtenidos fueron muy favorables, ya que se consiguió segmentar de forma fidedigna la fibrosis y la inflamación del tejido hepático, según validación por el experto anatomopatólogo. Conclusiones: Estos resultados sientan las bases para la creación de una herramienta más potente de análisis de imágenes histológicas, la cual ofrezca información más objetiva y, de este modo, ayude a la obtención de diagnósticos más precisos.

1. Introducción

Las enfermedades difusas hepáticas, cualquiera que sea la causa del debut en la alteración de los hepatocitos (infecciones virales, alcohol, trastornos del metabolismo, autoinmunidad o drogas), cursan con un proceso inflamatorio mantenido en el tiempo. Los depósitos asociados de grasa intracelular y de hierro favorecen este proceso inflamatorio. Con el tiempo se produce, a través de una cascada de respuesta celular y molecular, una acumulación progresiva de colágeno en el espacio intersticial como expresión de la fibrosis. Estos cambios tisulares deben analizarse y seguirse de forma adecuada y precisa, dado que están muy relacionados con el futuro desarrollo de cicatrices hepáticas, la progresión de fibrosis a cirrosis, incrementando significativamente la probabilidad de desarrollo de un hepatocarcinoma. Por lo

tanto, el grado de fibrosis y la severidad de la lesión hepatocitaria se ha de medir de la manera más exacta y precisa posible para establecer el pronóstico de cada paciente y evaluar las posibilidades terapéuticas.

Tradicionalmente, el daño hepatocitario se evalúa mediante anatomía patológica a través de información histológica semicuantitativa, obtenidas mediante el uso de escalas como, por ejemplo, el ISHAK y METAVIR [1, 2] para valorar el grado de fibrosis, cuantificación de microgramos de hierro e índice de hierro hepático (IHH) y porcentaje de esteatosis (puntuación histológica NASH CRN) [3]. El especialista realiza el análisis cualitativo de imágenes de corte muy fino del tejido hepático a través de un microscopio óptico. El tejido se prepara previamente con una tinción específica.

Actualmente, los avances tecnológicos en el campo de la digitalización de imágenes médicas, junto con el alto incremento de la capacidad de computación de los nuevos sistemas informáticos, permiten salvar muchas limitaciones de los métodos tradicionales obteniendo, de este modo, mediciones más objetivas que ayuden a los patólogos a complementar los resultados obtenidos con las metodologías tradicionales [4]. Esta digitalización en el campo de la anatomía patológica es lo que se conoce a día de hoy como patología digital (PD).

La patología digital consiste en convertir la luz de una imagen, obtenida a través de un microscopio, en un archivo digitalizado que permita su reproducción en un ordenador [5]. PD facilita además la manipulación, el procesamiento, el análisis y la compartición de las imágenes para, de este modo, aportar nueva información que pueda ser útil para el diagnóstico y que mediante los métodos de análisis tradicionales podría no ser posible su uso [6,7].

A pesar del gran potencial que tiene la PD, su uso en el diagnóstico clínico es reciente gracias, en parte, al desarrollo también de nuevos sistemas de escáneres de gran capacidad que permiten trabajar con un gran volumen de cortes patológicos. Estos nuevos dispositivos permiten además trabajar remotamente permitiendo un uso más eficiente del patólogo, así como automatizar algunos aspectos de la carga del trabajo del clínico.

2. Objetivos

El objetivo del presente trabajo consiste en desarrollar una nueva herramienta que permita cuantificar, mediante procesamiento de imágenes patológicas, la cantidad de fibrosis, hierro e inflamación del tejido hepático, buscando así obtener unos resultados objetivos y precisos de los valores patológicos que se encuentran en una hepatopatía crónica difusa, y de esta forma poder complementar los diagnósticos que los patólogos hagan en sus análisis.

3. Materiales y Métodos

El proyecto se realizó en el Hospital Universitari i Politècnic La Fe (HUPLF) en colaboración con el Hospital Clínico Universitario de Valencia (HCUV).

3.1. Instrumentación

Las imágenes utilizadas en este trabajo fueron obtenidas a partir muestras de tejido hepático, previamente teñidas, mediante el escáner VENTANA iScan HT, Roche (Roche, Basel, Switzerland) (Figura 1) situado en HCUV [8]. Este instrumento ofrece al servicio de anatomía patológica imágenes digitales de alta calidad con aumentos de hasta 40x aumentos.



Figura 1. VENTANA iScan HT de Roche

3.2. Protocolo

Las imágenes patológicas utilizadas en este trabajo fueron obtenidas mediante la realización de una biopsia hepática percutánea guiada por imagen para la obtención de 2-3 cm de material que incluía al menos 11 espacios portaes con una aguja del calibre 16.

Después de recoger las muestras, éstas fueron teñidas con diferentes tinciones a fin de poder destacar los diferentes componentes tisulares que queremos evaluar. Para este estudio se utilizaron las tinciones Perls (o azul de Prusia) para destacar el hierro, el tricrómico de Masson para evaluar la cantidad de fibrosis y el CD45 para detectar la inflamación hepática.

Después de realizar las diferentes tinciones en diferentes cortes de un mismo tejido hepático, éstas fueron colocadas en diferentes laminillas de vidrio para su conservación y su uso en el escáner.

Por último, una vez escaneadas todas las laminillas las imágenes fueron exportadas en un formato TIF multi-páginas para realizar el procesamiento digital de las imágenes.

3.3. Procesado digital de imágenes

El procesamiento de las imágenes y el desarrollo de los algoritmos se realizó con el programa Matlab 2015b (Mathworks Inc, Natick, MA, USA) [9].

Para la lectura de las imágenes se implementó una función que permitiera extraer la imagen del fichero multipáginas a una resolución deseada. Para este trabajo se utilizaron imágenes con la máxima resolución posible (25120 x 25728 píxeles).

El siguiente paso fue realizar una segmentación basada en color, utilizando el método de agrupamiento K-means.

Para ello, se transformó la imagen bajo análisis de un espacio RGB a un espacio de color CIE L^*a^*b (CIELAB). El espacio CIELAB es un modelo cromático donde se agrupan todos los colores que puede ver el ojo humano [10]. Este espacio está representado por tres parámetros que son la luminosidad del color (L), la posición entre rojo y verde (a^* , valores negativos tienden al verde) y su posición entre el amarillo y el azul (b^* , valores positivos tienden al amarillo).

A continuación, se utilizaron las componentes a^* y b^* para realizar el agrupamiento mediante el método K-means. Este método permite agrupar cada pixel en diferentes clúster y crear, de este modo, máscaras para poder seleccionar los píxeles de interés que determinen las diferentes componentes tisulares que conforman el tejido histológico.

Una vez seleccionado el clúster donde se agrupaban los píxeles con la información de la componente tisular a estudiar, se pasó a ajustar más la segmentación mediante una umbralización del histograma de la componente L. De este modo se podía segmentar la imagen dependiendo de si esta contenía una mayor o menor luminosidad del color seleccionado, según el caso que procediera.

La metodología desarrollada permite el análisis de tres componentes tisulares que coexisten en el parénquima hepático en las enfermedades difusas (fibrosis, hierro e inflamación). A continuación se muestran los resultados obtenidos:

- **Fibrosis:** para la detección de la fibrosis de una muestra se utilizó la tinción de tricrómico de Masson, una sustancia que destaca el colágeno de la muestra tiéndolo de un color azul oscuro. Por lo tanto el objetivo de esta segmentación fue detectar los píxeles cuyo color fuera un azul oscuro,
- **Inflamación:** la inflamación del tejido hepático fue detectada mediante una tinción denominada CD45. Esta tinción reacciona con la inflamación mostrando un color marrón oscuro,
- **Hierro:** la detección del hierro se realiza mediante la tinción Perls, una sustancia que evidencia la presencia de muestras de hierro en

la biopsia y reacciona destacando gránulos de color azul verdoso.

4. Resultados

Los resultados obtenidos fueron satisfactorios, y validados por un especialista en anatomía patológica. Las componentes de fibrosis e inflamación extrajeron de forma fidedigna. En el caso de la cuantificación del hierro, una vez aplicada la tinción Perls el patólogo comprobó que no existía ninguna acumulación de hierro en el tejido analizado. Aun así recomendó probar el algoritmo para detectar las áreas de los hepatocitos encontrados en la muestra. Estas áreas reaccionan al Perls mostrándose con un color rosa oscuro.

Dado que la evaluación de estos componentes es frecuentemente cualitativa, no existe un *ground truth* contra el que se pueda comparar nuestra segmentación.

De forma visual, el resultado de aplicar el algoritmo de segmentación se puede comprobar en las Figuras 2 a 4 para la fibrosis, inflamación y hierro, respectivamente.

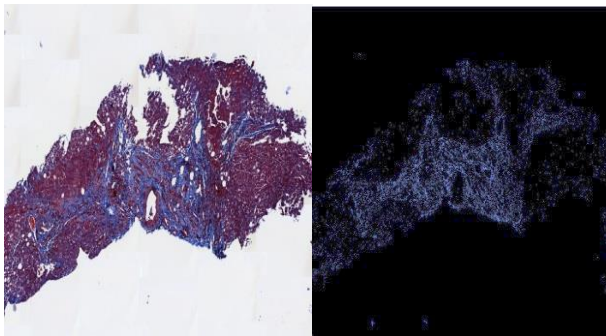


Figura 2. Tejido hepático teñido con tricrómico de Masson e imagen segmentada para la cuantificación de la fibrosis.

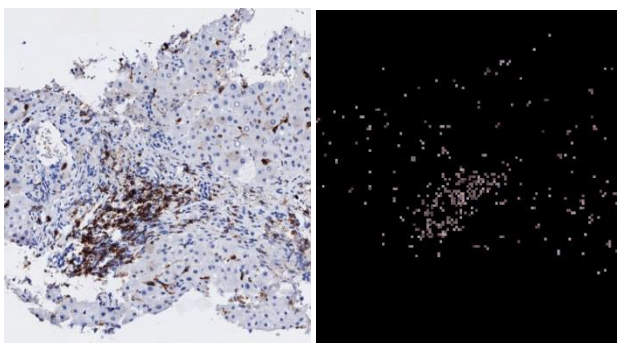


Figura 3. Tejido hepático teñido con CD45 e imagen segmentada para la cuantificación de la inflamación.

5. Discusión

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar, en una fase inicial, una herramienta que sirviera de apoyo a los patólogos a la hora de analizar muestras de tejido hepático afecto, ofreciendo información objetiva mediante un procesamiento digital de imagen.

Esta metodología consiste en una segmentación basada en color, de una muestra obtenida de una biopsia hepática previamente teñida. Esta segmentación dio como resultado una separación muy específica de las componentes (fibrosis, hierro e inflamación) que se puede encontrar en una muestra de tejido hepático alterado.

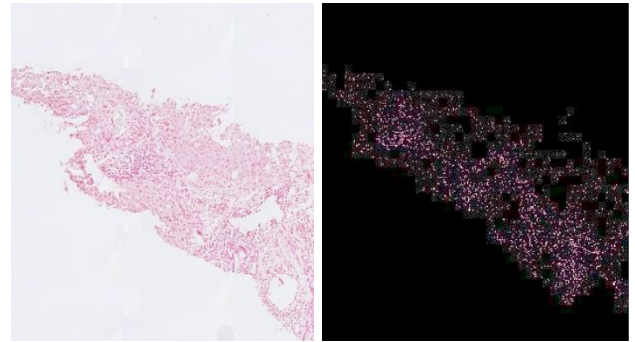


Figura 4. Tejido hepático teñido con Perls e imagen segmentada para la cuantificación de los hepatocitos.

Los resultados preliminares obtenidos muestran el camino para la implementación de una herramienta de análisis de imágenes patológicas de alta resolución que detecte y cuantifique, de una forma más automática y precisa, posibles daños patológicos en las muestras de tejido a analizar.

Por lo tanto, las líneas de desarrollo futuro del proyecto serán dirigidas en tres caminos. El primero será complementar el estudio con más casos de biopsias hepáticas, en donde se pretende poner a prueba la metodología descrita para, de este modo, detectar posibles errores y mejoras del algoritmo y así facilitar su uso a los patólogos. El segundo camino va dirigido a adaptar nuestra metodología a otros estudios de anatomía patológica, diferentes a la biopsia hepática, para intentar ampliar el espectro de análisis de la herramienta. Y por último, la herramienta será validada por experimentados patólogos, quienes valorarán la información ofrecida, comparándola con la obtenida mediante las técnicas tradicionales.

Referencias

- [1] Ishak K, Baptista A, Bianchi L, et al: Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol*. 1995, 22: 696-699. 10.1016/0168-8278(95)80226-6.
- [2] Bedossa, P., & Poynard, T. (1996). An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. *Hepatology*, 24(2), 289-293.
- [3] Speliotes, E. K., Yerges-Armstrong, L. M., Wu, J., Hernaez, R., Kim, L. J., Palmer, C. D. & Nalls, M. A. (2011). Genome-wide association analysis identifies variants associated with nonalcoholic fatty liver disease that have distinct effects on metabolic traits. *PLoS genetics*, 7(3), e1001324.
- [4] Bhargava, R., & Madabhushi, A. (2016). Emerging themes in image informatics and molecular analysis for digital pathology. *Annual review of biomedical engineering*, 18, 387-412.
- [5] Snead, D. R., Tsang, Y. W., Meskiri, A., Kimani, P. K., Crossman, R., Rajpoot, N. M., ... & Momtahan, N. (2016).

Validation of digital pathology imaging for primary histopathological diagnosis. *Histopathology*, 68(7), 1063-1072.

- [6] Furness, P. N. (1997). The use of digital images in pathology. *The Journal of pathology*, 183(3), 253-263.
- [7] Gurcan, M. N., Boucheron, L. E., Can, A., Madabhushi, A., Rajpoot, N. M., & Yener, B. (2009). Histopathological image analysis: A review. *IEEE reviews in biomedical engineering*, 2, 147-171.
- [8] VENTANA iScan HT, Roche-Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA.
- [9] MATLAB and Image Processing Toolbox Release 2015b, The MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts, United States.
- [10] Weatherall, I. L., & Coombs, B. D. (1992). Skin color measurements in terms of CIELAB color space values. *Journal of investigative dermatology*, 99(4), 468-473.

Señales Biomédicas III

Miércoles, 29 de Noviembre

Análisis de fluctuaciones sin tendencias (DFA) en los registros de oximetría para la ayuda en el diagnóstico del síndrome de la apnea-hipopnea del sueño infantil

F. Vaquerizo Villar¹, D. Álvarez González^{1,2}, L. Kheirandish Gozal³, G.C. Gutiérrez Tobal¹, V. Barroso García¹, R. Romero Oraá¹, A. Crespo Sedano^{1,2}, F. del Campo^{1,2}, D. Gozal³, R. Hornero¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, fernando.vaquerizo@gib.tel.uva.es

² Servicio de Neumología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España, fsas@telefonica.net

³ Dept. of Pediatrics, Pritzker School of Medicine, Biological Sciences Division, The University of Chicago, Chicago, Estados Unidos, dgozal@peds.bsd.uchicago.edu

Resumen

En este estudio se pretende simplificar el diagnóstico del Síndrome de la Apnea-Hipopnea del Sueño (SAHS) infantil. Para ello, se ha desarrollado una metodología basada en el análisis automático de la señal de saturación de oxígeno en sangre (SpO₂) procedente de la oximetría nocturna. Se ha utilizado una base de datos compuesta por registros de SpO₂ de 298 niños. En primer lugar, se ha aplicado el análisis de fluctuaciones sin tendencias (DFA) para extraer características que permitan caracterizar relaciones de escala y fluctuaciones producidas en la señal de SpO₂. A continuación, se ha entrenado un clasificador binario basado en análisis discriminante lineal (LDA) a partir de las características extraídas para determinar la presencia de SAHS. Esta metodología se ha evaluado utilizando tres puntos de corte del índice de apnea-hipopnea (IAH) empleados para determinar la severidad del SAHS en niños: 1, 5 y 10 eventos por hora de sueño (e/h). Los resultados obtenidos mostraron diferencias en las fluctuaciones y las relaciones de escala de la señal de SpO₂ asociadas a la severidad del SAHS. En términos de precisión, el modelo LDA alcanzó un elevado rendimiento diagnóstico a la hora de determinar la presencia de SAHS moderado (IAH ≥ 5 e/h, 81.2%) y SAHS severo (IAH ≥ 10 e/h, 84.6%). Estos resultados sugieren que el análisis de la señal de SpO₂ mediante DFA es útil para determinar la presencia de SAHS infantil moderado-a-severo.

1. Introducción

El Síndrome de la Apnea-Hipopnea del Sueño en niños (SAHS) es un trastorno respiratorio caracterizado por la aparición recurrente de eventos de ausencia completa (apnea) y/o reducción significativa (hipopnea) del flujo aéreo durante el sueño [1]. El SAHS tiene una alta prevalencia (1-5%) en la población infantil y, además, se trata de una patología infradiagnosticada [1,2]. En caso de no ser tratada, esta enfermedad puede tener múltiples consecuencias negativas para la salud y el desarrollo de los niños, como la disfunción cardiometabólica, el déficit neurocognitivo o el retraso en el crecimiento [1].

La técnica de diagnóstico estándar del SAHS infantil es la polisomnografía (PSG) nocturna, prueba en la que se registran múltiples señales cardiorrespiratorias y neurofisiológicas durante el sueño [1]. Sin embargo, la PSG es una prueba de elevado coste económico, ya que requiere la presencia del niño y personal médico especializado durante la noche en una unidad de sueño [1].

Además, se trata de una prueba altamente intrusiva para los niños debido al uso de múltiples sensores y presenta disponibilidad limitada [3,4].

Estas limitaciones, junto con la alta prevalencia de la enfermedad, han potenciado la demanda de técnicas de diagnóstico más sencillas [3]. Además, la Academia Americana de Pediatría (AAP) recomienda realizar test diagnósticos alternativos a la PSG cuando ésta no se encuentre disponible [1]. En este sentido, uno de los enfoques más comunes es el análisis de un conjunto reducido de señales. Dentro de estas alternativas destaca la oximetría nocturna, ya que se trata de una técnica fiable y sencilla de utilizar en niños. Además, la oximetría nocturna se puede realizar en el domicilio del paciente debido a la existencia de dispositivos portátiles comerciales [3,5].

Estudios previos han demostrado la utilidad del análisis automático de la señal de saturación de oxígeno en sangre (SpO₂) procedente de la oximetría nocturna en la ayuda al diagnóstico del SAHS infantil. Varios de estos estudios han mostrado la utilidad de distintas técnicas de análisis no lineal, como son la entropía aproximada [5], la entropía muestral [5,6], la medida de la tendencia central [5,6] y la entropía de múltiples escalas [7]. Por ello, en este estudio se propone el análisis de la señal de SpO₂ mediante una técnica de análisis no lineal: el análisis de fluctuaciones sin tendencias (*Detrended Fluctuation Analysis*, DFA) [8]. El DFA permite estimar información de escala y correlaciones de largo alcance en una serie temporal [9,10]. Se trata de un método adecuado para caracterizar propiedades no estacionarias, como las producidas en la señal de SpO₂ por los eventos de apnea e hipopnea. Además, este método ha demostrado previamente su utilidad para caracterizar relaciones de escala y fluctuaciones producidas en la variabilidad del pulso cardiaco y en la frecuencia cardiaca en pacientes de SAHS [9,10].

En este estudio se parte de la hipótesis de que el DFA podría ser una herramienta útil para caracterizar relaciones de escala y las fluctuaciones producidas en los registros de oximetría asociados al SAHS. El objetivo del estudio es, por tanto, verificar la utilidad del DFA en el diagnóstico del SAHS infantil empleando únicamente la señal SpO₂. Para conseguir este objetivo, en primer lugar, se han

extraído características de las curvas de evolución del DFA. A continuación, se ha construido un modelo de clasificación mediante análisis discriminante lineal (*Linear Discriminant Analysis*, LDA) [11] a partir de las características extraídas para, finalmente, evaluar el rendimiento diagnóstico de la metodología utilizando distintos puntos de corte de severidad de SAHS infantil.

2. Sujetos y señales

En este estudio se ha analizado una base de datos compuesta por 298 niños (166 niños y 132 niñas) de 0 a 13 años de edad. Todos los pacientes fueron remitidos a la unidad del sueño del *Comer Children's Hospital* de la Universidad de Chicago (EE.UU.) por sospecha de padecimiento de SAHS. En todos los casos se obtuvo el consentimiento informado para participar en este estudio y el Comité Ético del Hospital aprobó el protocolo de investigación.

Los registros de SpO₂ fueron adquiridos a una frecuencia de muestreo de 25 Hz. Se aplicó una etapa de preprocesado automático para detectar y eliminar artefactos en las señales de SpO₂ (muestras de SpO₂ inferiores al 50% y tramos de señal con pendiente superior al 4% por segundo) [12]. Posteriormente, se aplicó una ventana de promediado temporal sin solapamiento de 1 segundo a la señal de SpO₂ (frecuencia de muestreo efectiva de 1 Hz). Esta ventana es de tamaño inferior a 3 segundos, que es el tiempo máximo de promediado temporal recomendado por la Academia Americana de Medicina del Sueño (*American Academy of Sleep Medicine*, AASM) [7].

En la PSG, se utilizaron las reglas de la AASM para obtener el índice de apnea-hipopnea (IAH), que determina el número de eventos por hora de sueño (e/h). El IAH es la variable clínica que sirve para determinar la severidad de la enfermedad. En pediatría, se asocia un IAH < 1 e/h al no padecimiento de SAHS, 1 ≤ IAH < 5 e/h con un SAHS leve, 5 ≤ IAH < 10 e/h con un SAHS moderado y un IAH ≥ 10 e/h con un SAHS severo [13]. Por ello, en este estudio se han utilizado los puntos de corte 1 e/h, 5 e/h y 10 e/h del IAH para evaluar la capacidad diagnóstica de la metodología propuesta.

La población bajo estudio se dividió de manera aleatoria en grupo de entrenamiento (50%), utilizado para optimizar la metodología propuesta, y en grupo de test (50%), empleado para validar esta metodología. La tabla 1 muestra las características sociodemográficas y clínicas de la población bajo estudio. No se encontraron diferencias significativas en la edad, el sexo, el índice de masa corporal (IMC) y el IAH entre el grupo de entrenamiento y el grupo de test.

3. Metodología

3.1. Extracción de características: Análisis de fluctuaciones sin tendencias

DFA es un método que permite detectar fluctuaciones y relaciones de escala en una serie temporal [9]. Dada una señal $X = x_1, x_2, \dots, x_N$, DFA se aplica realizando los siguientes pasos [8,9]:

1. Se integra la señal $x(t)$:

	Todos	Entrenamiento	Test
Sujetos (n)	298	149	149
Edad (años)	6[4-9]	6[4-9]	7[4-9]
Varones (n)	166 (55.7%)	88 (59.1%)	78 (52.4%)
IMC (kg/m²)	18.4 [16.3-23.0]	18.4 [16.4-23.2]	18.4 [16.3-22.7]
IAH (e/h)	4.2 [1.8-10.4]	4.3 [1.8-10.5]	4.2 [1.7-10.2]
IAH ≥ 1 (e/h)	254 (85.2%)	127 (85.2%)	127 (85.2%)
IAH ≥ 5 (e/h)	134 (45.0%)	67 (45.0%)	67 (45.0%)
IAH ≥ 10 (e/h)	78 (26.2%)	39 (26.2%)	39 (26.2%)

Los datos se presentan como mediana [rango intercuartil] o n(%).
IMC: Índice de masa corporal

Tabla 1. Características socio-demográficas y clínicas de la población bajo estudio

$$y_i = \sum_{j=1}^i [y_j - X'] \quad (1)$$

donde X' representa el valor promedio de la señal X .

2. Se divide la señal integrada en B ventanas iguales. El tamaño de cada ventana, k , se encuentra entre 3 y 500.
3. En cada ventana b se realiza un ajuste de mínimos cuadrados de y_i por una línea recta y^b . Así, se obtiene la tendencia local para cada ventana.
4. Se define $F_b^2(k)$ como la varianza de la fluctuación y_i de y^b en la ventana b -ésima:

$$F_b^2(k) = \frac{1}{k} \sum_{t=(b-1)k+1}^{bk} (y_t - y_t^b)^2 \quad (2)$$

5. La raíz cuadrada del promedio de $F_b^2(k)$ a lo largo de todas las ventanas es la fluctuación del valor cuadrático medio de las tendencias locales en B ventanas, cada una de k puntos:

$$F(k) = \sqrt{\frac{1}{B} \sum_{b=1}^B F_b^2(k)} \quad (3)$$

6. Finalmente, el estudio de la dependencia logarítmica de $F(k)$ con respecto a k permite extraer características del DFA. Los valores de $F(k)$ proporcionan información acerca de las fluctuaciones de la serie temporal, mientras que el perfil de la curva $F(k)$ vs. k permite detectar relaciones de escala presentes en la serie temporal.

3.2. Clasificación: Análisis Discriminante Lineal

LDA se aplicó como clasificador binario para asignar automáticamente a cada sujeto al grupo SAHS positivo o al grupo SAHS negativo para cada punto de corte del IAH (1, 5 y 10 e/h). LDA es un algoritmo de aprendizaje supervisado que divide el espacio de características de entrada en regiones de decisión, siendo la frontera que las separa una función lineal [11]. Este método determina, para cada patrón de características de entrada, la función discriminante de cada clase y le asigna la clase para la que el discriminante sea mayor [11].

3.3. Análisis estadístico

El rendimiento del clasificador LDA y las características individuales fueron evaluados en términos de sensibilidad, (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y

negativo (VPN), razón de verosimilitud positiva (LR+) y negativa (LR-) y precisión (P).

4. Resultados

4.1. Grupo de entrenamiento

En la Figura 1 se muestra el perfil del DFA promedio en escala logarítmica para cada grupo de severidad (IAH <1 e/h, 1 ≤ IAH <5 e/h, 5 ≤ IAH <10 e/h, IAH ≥10 e/h). Se puede apreciar un valor promedio mayor de $F(k)$ y una mayor pendiente cuanto mayor es la severidad del SAHS en las primeras escalas y un cambio de tendencia en la pendiente del perfil del DFA en las escalas superiores.

Para cuantificar las diferencias en las fluctuaciones de los registros de SpO₂ entre grupos de severidad del SAHS, se ha obtenido como característica, para cada punto de corte del IAH (1, 5 y 10 e/h), el valor de $F(k)$ en aquella escala $k=kx$ para la cual hay mayor diferencia en el valor promedio de $F(k)$ entre SAHS positivos y SAHS negativos. Las escalas obtenidas para cada punto de corte han sido las siguientes: $kx=144$ (IAH=1 e/h), $kx=22$ (IAH=5 e/h) y $kx=23$ (IAH=10 e/h). Además, se han determinado de manera visual, para cada punto de corte del IAH, las distintas regiones de escalado del perfil del DFA en función de la pendiente para cuantificar distintas relaciones de escala asociadas a la severidad del SAHS. Las regiones de escalado obtenidas han sido las siguientes:

- IAH=1 e/h. Región de escalado 1: $4 \leq k \leq 24$. Región de escalado 2: $55 \leq k \leq 500$.
- IAH=5 e/h. Región de escalado 1: $4 \leq k \leq 27$. Región de escalado 2: $66 \leq k \leq 500$.
- IAH=10 e/h. Región de escalado 1: $4 \leq k \leq 25$. Región de escalado 2: $40 \leq k \leq 500$.

Se han extraído como características, para cada valor del IAH, las pendientes en las regiones de escalado 1 (α_1) y 2 (α_2). Por tanto, se ha conformado un conjunto de partida compuesto de 3 características para cada punto de corte del IAH: ($F(kx)$, α_1 y α_2). A continuación, para cada punto de corte del IAH, se entrenó el clasificador LDA a partir de las 3 características extraídas y se construyó el modelo con la población de entrenamiento.

4.2. Grupo de test

La tabla 2 muestra el rendimiento diagnóstico de las características individuales y el clasificador LDA en el conjunto de test para puntos de corte del IAH de 1, 5 y 10 e/h, respectivamente. En cuanto a las características individuales, $F(kx_1)$ obtuvo la mayor precisión (71.8%) para el punto de corte IAH= 1 e/h, mientras que $F(kx_2)$ alcanzó la mayor precisión (76.5%) para un punto de corte de 5 e/h y $F(kx_3)$ alcanzó la mayor precisión (83.2%) para un punto de corte de 10 e/h. El clasificador LDA diseñado a partir de las características extraídas obtuvo precisiones del 67.1% (64.6% S, 81.8% E), 81.2% (68.7% S, 91.5% E) y 84.6% (71.8% S, 89.1% E) para los puntos de corte del IAH de 1, 5 y 10 e/h, respectivamente.

5. Discusión y conclusiones

En este trabajo se ha evaluado la utilidad del DFA en la ayuda al diagnóstico del SAHS infantil mediante la señal

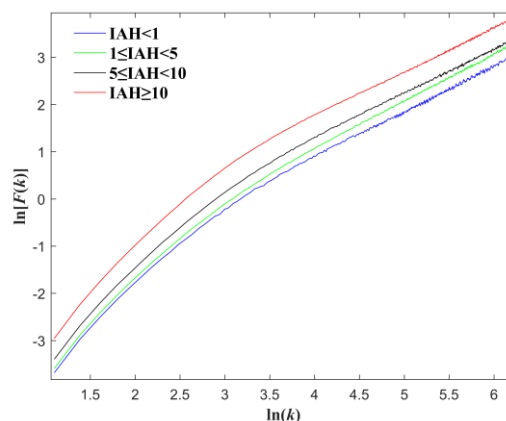


Figura 1. Perfil del DFA, representación de $F(k)$ vs. k en escala logarítmica para cada grupo de severidad en el conjunto de entrenamiento.

Punto de corte IAH=1 e/h							
Características	S	E	VPP	VPN	LR+	LR-	P
α_1	63.0	77.3	94.1	26.6	2.77	0.48	65.1
α_2	54.3	27.3	81.2	9.4	0.75	1.67	50.3
$F(kx_1)$	73.2	63.6	92.1	29.2	2.01	0.42	71.8
LDA	64.6	81.8	95.4	28.6	3.55	0.43	67.1
Punto de corte IAH=5 e/h							
Características	S	E	VPP	VPN	LR+	LR-	P
α_1	67.2	73.2	67.2	73.2	2.50	0.45	70.5
α_2	47.8	40.2	39.5	48.5	0.80	1.30	43.6
$F(kx_1)$	76.1	76.8	72.9	79.7	3.29	0.31	76.5
LDA	68.7	91.5	86.8	78.1	8.05	0.34	81.2
Punto de corte IAH=10 e/h							
Características	S	E	VPP	VPN	LR+	LR-	P
α_1	84.6	67.3	47.8	92.5	2.59	0.23	71.8
α_2	48.7	47.3	24.7	72.2	0.92	1.08	47.7
$F(kx_3)$	74.4	86.4	65.9	90.5	5.45	0.30	83.2
LDA	71.8	89.1	70.0	89.9	6.58	0.32	84.6

Tabla 2. Rendimiento diagnóstico de las características individuales extraídas y el clasificador LDA en el conjunto de test para los puntos de corte de 1, 5 y 10 e/h

de oximetría. El parámetro con mayor rendimiento diagnóstico para los distintos puntos de corte de SAHS (1, 5 y 10 e/h) fue $F(kx)$. Estos resultados sugieren que hay diferencias en las fluctuaciones en los registros de SpO₂ asociadas a la severidad del SAHS infantil. El modelo LDA diseñado para cada punto de corte a partir de las características extraídas ($F(kx)$, α_1 y α_2) alcanzó un alto rendimiento diagnóstico, especialmente en la detección del SAHS moderado (IAH ≥5 e/h, 81.2%) y el SAHS severo (IAH ≥10 e/h, 84.6%). Además, estos resultados mejoraron el rendimiento de las características individuales para 5 y 10 e/h. Por tanto, las fluctuaciones y las relaciones de escala presentes en los registros de SpO₂ son útiles a la hora de determinar la presencia de SAHS moderado-a-severo en niños.

Los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan con otros estudios recientes centrados en la ayuda al diagnóstico del SAHS infantil, que emplean análisis no lineal de registros de SpO₂. Garde *et al.* [5], combinaron características no lineales de las señales de SpO₂ con índices de oximetría, parámetros temporales, estadísticos y espectrales de las señales de SpO₂ y de la frecuencia de pulso mediante LDA, alcanzando una precisión del 84.9% (IAH_{≥5} e/h) en una base de datos de 146 sujetos pediátricos. En el estudio desarrollado por Álvarez *et al.* [6], se construyó un modelo de regresión logística (RL) a partir de parámetros no lineales, estadísticos, espectrales e índices de oximetría de la señal de SpO₂, obteniendo precisiones del 85.5% (IAH_{≥1} e/h), 83.4% (IAH_{≥3} e/h) y 82.8% (IAH_{≥5} e/h) en una base de datos de 50 niños. De manera similar, Crespo *et al.* [7] emplearon un clasificador RL construido a partir de la entropía de múltiples escalas e índices de oximetría procedentes de la señal de SpO₂, obteniendo una precisión del 83.9% (IAH_{≥3} e/h) en la misma base de datos que Álvarez *et al.* Sin embargo, estos estudios han combinado características no lineales con otros parámetros de la señal de SpO₂. En cambio, en el presente estudio se ha conseguido un gran rendimiento diagnóstico empleando únicamente una medida no lineal, DFA, en una base de datos mayor que en estudios previos. Hasta donde conocemos es la primera vez que se aplica DFA a registros de SpO₂ en la ayuda a la detección del SAHS infantil y su severidad.

Este estudio presenta ciertas limitaciones. En primer lugar, la base de datos tendría que estar más balanceada entre grupos de severidad para que los resultados sean más generalizables. Además, se debería validar la metodología propuesta en registros de oximetría obtenidos de manera no supervisada en el domicilio de los niños. También sería útil combinar el DFA con técnicas adicionales de extracción de características, así como emplear métodos adicionales de selección de características y clasificación que permitan mejorar el rendimiento diagnóstico de la señal de SpO₂ en el contexto del SAHS infantil.

En resumen, se ha diseñado y optimizado un clasificador LDA a partir de características extraídas del DFA, alcanzando un alto rendimiento diagnóstico en la detección del SAHS moderado y severo. Estas características proporcionan información acerca de las diferencias en las fluctuaciones y las relaciones de escala de la señal de SpO₂ según la severidad del SAHS. Por lo tanto, se podría concluir que el análisis de la señal de SpO₂ mediante DFA es una herramienta útil a la hora de determinar la presencia de SAHS infantil moderado-a-severo.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León y FEDER (VA037U16), el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) y FEDER (TEC2014-53196-R y RTC-2015-3446-1), la 'European Commission' y FEDER (POCTEP 0378_AD_EEGWA_2_P), y la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR 153/2015). F. Vaquerizo Villar es beneficiario de una Ayuda para contratos predoctorales para la Formación de Profesorado

Universitario (FPU) del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte. V. Barroso García es beneficiaria de una ayuda concedida por la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León y el Fondo Social Europeo. D. Álvarez es beneficiario de un contrato Juan de la Cierva financiado por el MINECO (IJCI-2014-22664).

Referencias

- [1] Marcus CL, Brooks LJ, Ward SD, Draper KA, Gozal D, Halbower AC, Jones J, Lehmann C, Schechter MS, Sheldon S, Shiffman RN, Spruyt K. Diagnosis and Management of Childhood Obstructive Sleep Apnea Syndrome. *Pediatrics*, 2012, vol 130, sup3, pp. e714–e755.
- [2] Lipton AJ, Gozal D. Treatment of obstructive sleep apnea in children: Do we really know how?. *Sleep Med. Rev.*, 2003 vol 7, sup 1, pp. 61–80.
- [3] Nixon GM, Kermack AS, Davis GM, Manoukian JJ, Brown A, Brouillette RT. Planning adenotonsillectomy in children with obstructive sleep apnea: the role of overnight oximetry. *Pediatrics*, 2004, vol 113, sup 1, pp. e19–e25.
- [4] Katz ES, Mitchell RB, Ambrosio CMD. Obstructive Sleep Apnea in Infants. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 2012, vol 185, sup 8, pp. 805–16.
- [5] Garde A, Dehkordi P, Karlen W, Wensley D, Ansermino JM, Dumont GA. Development of a screening tool for sleep disordered breathing in children using the phone oximeterTM, 2014, *PLoS One*, vol 9, sup 11, pp. e112959.
- [6] Álvarez D, Alonso-Álvarez ML, Gutiérrez-Tobal GC, A. Crespo A, L. Kheirandish-Gozal L, Hornero R, Gozal D, Terán-Santos J, Del Campo F. Automated Screening of Children With Obstructive Sleep Apnea Using Nocturnal Oximetry: An Alternative to Respiratory Polygraphy in Unattended Settings, *J Clin Sleep Med*, 2017, vol 13, sup 5, pp. 7–11.
- [7] A. Crespo A, Álvarez D, Gutiérrez-Tobal GC, Vaquerizo-Villar F, Barroso-García V, Alonso-Álvarez ML, Terán-Santos J, Hornero R, del Campo F. Multiscale Entropy Analysis of Unattended Oximetric Recordings to Assist in the Screening of Paediatric Sleep Apnoea at Home, *Entropy*, 2017, vol 19, sup 6, pp. 284.
- [8] Peng CK, Buldyrev SV, Havlin S, Simons M, Stanley HE, Goldberger AL. Mosaic organization of DNA nucleotides. *Phys. Rev. E*, 1994, vol 49, sup 2, pp. 1685-9.
- [9] Park J, Lee H, Lee J, Penzel T, Kesper K, Pinnow I. Evaluation of cardiac modulation in children in response to apnea / hypopnea using the Phone Oximeter TM. *Physiol. Meas*, 2016, vol. 37, sup 2, pp 187–202.
- [10] Penzel T, Kantelhardt JW, Grote L, Peter L, Bunde A. Comparison of detrended fluctuation analysis and spectral analysis for heart rate variability in sleep and sleep apnea. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 2003, vol 50, sup 10, pp. 1143–51.
- [11] Jobson J. Applied multivariate data analysis: volume II: Categorical and Multivariate Methods. Springer Science & Business Media, 2012.
- [12] Magalang UJ, Dmochowski J. Prediction of the Apnea-Hypopnea Index From Overnight Pulse Oximetry. *CHEST J*, 2003, vol 124, sup 5, pp. 1694–1701.
- [13] Tan HL, Gozal D, Ramirez HM, Bandla HPR, Kheirandish-Gozal L. Overnight polysomnography versus respiratory polygraphy in the diagnosis of pediatric obstructive sleep apnea, *Sleep*, 2014, vol 37, sup 2, pp. 255–260.

Towards a Quantification of EEG Brain Activity in the Self-Pacing Regime

Joana Silva¹, António Martins da Silva², Sara Reis^{1,3}, Luís Coelho^{1,3}

¹ Physics Department, Instituto Superior de Engenharia do Porto, Porto, Portugal, {1160318, ssr, lfc}@isep.ipp.pt

² Serviço Neurofisiologia, Hospital Santo António/CH Porto and UMIB-ICBAS, Universidade do Porto, Porto, Portugal
{ams@icbas.up.pt}

³ CIETI – Instituto Superior de Engenharia do Porto, Portugal

Abstract

The processing of motor, sensory and cognitive information by the brain can result in changes in the dynamics of the EEG in the form of Event Related Desynchronization (ERD) or Event Related Synchronization (ERS). The first one concern a decrease in the amplitude of a rhythmic activity, when there is an increase in excitability against cortical activation, while the second corresponds to an increase in amplitude of a rhythmic activity, resulting from a deactivation of this same cortical area. The analysis of these two phenomena in specific frequency bands - alpha (8 - 13 Hz) and beta (14 - 30 Hz) - allows the understanding of the cerebral activity. This study focuses on the quantification of cerebral activity by determining the ERD and ERS on the referred band, induced by self-paced movements, by using EEGLAB and MATLAB tools. The results indicate that the amplitudes of the resting brain signals are greater than the amplitudes during the performance of an activity, which indicates that a greater desynchronization of the signal is accompanied by a decrease in the amplitude of the same. As a conclusion, the cerebral activity varies in terms of synchronization and desynchronization among certain frequency bands in several zones, according to the tasks performed.

Keywords: Electroencephalogram (EEG); Event Related Desynchronization (ERD); Event Related Synchronization (ERS); alfa band (8-13 Hz); beta band (14-30 Hz); Self-pacing.

1. Introduction

The electroencephalogram (EEG) records the amplified electrical activity coming from the brain's nerve cells - the neurons. Through the placement of electrodes on the scalp, it is possible to obtain a sinusoidal signal, which is generated by the electrical fields that are the basis of the generation of the EEG [1].

It is known that the characteristics of the waves recorded in the EEG change according to the physiological condition of the individual and is different on waking, sleeping, dreaming, etc., with changes on amplitude and frequency. The EEG common frequencies bands are alpha (8-13 Hz), beta (14-30 Hz), theta (4-7.5 Hz) or delta (0.1-3.5 Hz) [2, 3]. These frequency bands are more evident in specific brain zones, at rest or depending on the stimuli to which the brain is subjected. These stimuli / events produce responses of different neuronal structures that alter EEG dynamics. Such changes can be classified as Event Related Desynchronization (ERD) and Event Related Synchronization (ERS) [3,4]. The first relates to a

decrease in the amplitude of a rhythmic activity, when there is an increase in excitability against cortical activation, while the second corresponds to an increase in the amplitude of a rhythmic activity, resulting from a deactivation of the same cortical area [3,4].

According to the previous explanation, there are then three different states of cortical processing [3]:

1. Neutral or resting state, with no specific processing of sensory, motor or cognitive information;
2. Active state with high information processing in a specific system and increased excitability of cortical neurons. This state is characterized by ERD;
3. Deactivated state, with reduced information processing in a specific system and decreased cortical excitability. This state is characterized by ERS in the lower alpha and beta bands.

Since ERD/ERS is a response of different neuronal structures, the objective of this study is to quantify this response within specific frequency bands - alpha and beta - in individuals, when placed in self-pacing activity. This term refers to a self-managed activity whose stimuli are triggered by the individual, in a rhythm of his own that do not originate from the outside (for example, counting 5 seconds and, at the end of each time interval, lifting a finger) [5]. One of the aims of this type of study is, for example, to decode voluntary movement before the action towards implementing practical brain-machine interface (BMI) technology for intuitive neuroprosthesis [6].

After ERD/ERS quantification in 3 different participants, the purpose was to perform a study of the diverse values obtained and to define if they can be used as an individual measure of the normality of the cerebral activity, analysing the variations in terms of locations of the scalp.

2. Materials and Methods

Three healthy individuals, two females, one male, with similar age (young adults – 20-22 years old), highly educated, and not using pharmacological treatments, were studied on a voluntary base. For the acquisition of the EEG signals we studied all individuals, placing electrodes on the scalp surface according to the 10-20 International System [3]. In this study, only 16 electrodes were placed in the right and left hemispheres, as shown in figure 1 a)

and b). This number of electrodes was sufficient to capture information from the various zones of the scalp and to reduce the interference between the signals of neighbouring channels. Since the electric potential is a relative magnitude, it was necessary to use a reference, given by the sum of the electrodes electrical signals acquired in each channel and divided by the total number of channels (average). In addition to the electrodes placed on the scalp, another three were placed: one in the extensor/flexor of the right hand, one in the left hand extensor/flexor and another on the chest to record the ECG.

The experimental procedure comprises two parts: one at rest and another of self-pacing. First, the signal was recorded with the eyes open for two minutes, followed by acquisition with eyes closed for two minutes. After, we ask the individual to open the eyes and close three times to see the artefacts. In the second part, the participant, in waking state, counts for five seconds and then rise his right hand. This protocol was repeated for up to five minutes and, when finished, the individual is asked to repeat the same procedure for the left hand.

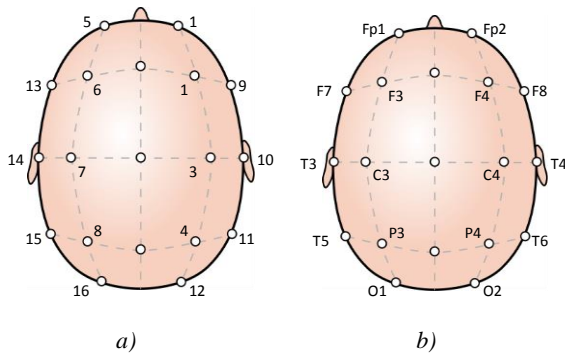


Figure 1. Positioning of the electrodes extracted from EEGLAB loaded data: a) by index; b) by name.

The acquisition of the signals was done through the Brain Wave II EEG equipment, that works with BWAnalysis software [7]. This software, running in a computer with Windows operating system and using a 300 Hz sampling frequency, exports the data to the edf. file format [8] that, posteriorly, are loaded and worked in EEGLAB [9] and MATLAB [10]. With the signals loaded, the software EEGLAB allows to perform a graphical analysis while MATLAB can run signal processing algorithms with the multi-channel numerical data.

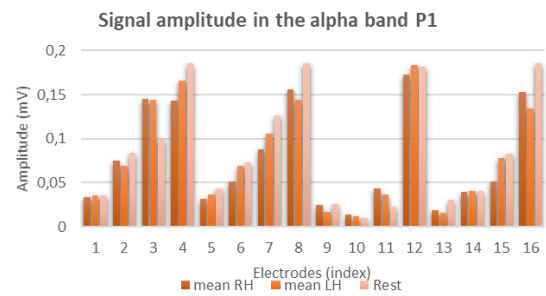
The ERD calculation was performed with MATLAB according to the classical method, which consists in the following sequence of steps [2]:

1. Filter the signal with a bandpass filter referring to the frequency range to be studied;
2. Raise the signal squared to get its energy;
3. Average the amplitudes for each sample in all the tests;
4. Subtract for each sample the mean of the sum of all amplitudes of the signal;
5. Add the amplitudes of all samples, within each test, and divide by the total number of samples;

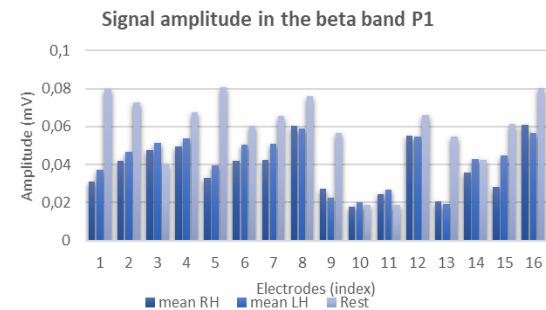
6. Calculate the ERD, which is given by: $ERD\% = ((A-R) / R) \times 100$, where A is the calculated power in the analysis interval and R is the bandwidth in all assays.

3. Results

In MATLAB, the signal from each electrode was filtered according to the frequency band of interest and the mean amplitudes of each were calculated through the procedure previously explained. These amplitudes were then compared with the basal activity (at rest) of the participant, in order to observe their evolution before a situation of brain activity. The graphs 1 and 2 illustrate the comparison between the amplitude of each channel at rest and the amplitude of each active channel, in alpha band and in beta band, respectively, for the participant 1.



Graphic 1. Comparison between the signal amplitudes at rest condition and during activity in the right hand (RH) and left (LH) movement situations, in the alpha frequency band, for the participant 1 (P1).



Graphic 2. Comparison between the signal amplitudes at rest condition and during activity in the right hand (RH) and left (LH) movement situation, in the beta frequency band, for the participant 1 (P1).

According to the previous graphs, it is observed that it is an amplitude of rest and greater in almost all others, to the amplitudes recorded in situations of activity. These data indicate that a desynchronization activity is accompanied by a decrease in signal amplitude, as explained in the introduction [2,6]. Although the trend observed in the charts is in accordance with the literature, there are some channels that register an amplitude increase. This relates to the fact, in different locations, in real time, a synchronization is accompanied by an increase in amplitude and indicates a reduction without information processing.

Index	ERD P1 (%)	ERD P2 (%)	ERD P3 (%)
1	-99,5859	-99,5820	-99,0842
2	-98,0215	-98,0087	-99,8129
3	-92,7123	-92,9783	-98,8494
4	-93,4838	-93,2125	-95,5767
5	-99,5988	-99,6145	-99,9881
6	-99,1365	-99,0864	-99,7644
7	-97,5036	-97,4459	-99,1970
8	-92,3399	-91,7575	-93,8982
9	-99,7930	-99,7947	-99,9812
10	-99,9282	-99,9290	-99,9427
11	-99,3325	-99,3155	-97,6271
12	-90,3750	-90,5365	-96,9397
13	-99,8638	-99,8680	-99,9895
14	-99,4664	-99,4120	-99,8795
15	-99,0910	-99,0734	-99,0050
16	-92,3850	-91,7960	-96,4430

Table 1. Desynchronization values (in percentage) associated with each electrode, in the right hand movement situation, analysed in the alpha frequency band, for the three participants (P1, P2 and P3).

Index	ERD P1 (%)	ERD P2 (%)	ERD P3 (%)
1	-99,6777	-99,6191	-99,9830
2	-99,4183	-99,4043	-99,8365
3	-99,2072	-99,2196	-99,5729
4	-99,1752	-99,1779	-99,2399
5	-99,6312	-99,5997	-99,9739
6	-99,3410	-99,3700	-99,6935
7	-99,3552	-99,3516	-99,7165
8	-98,8607	-98,8217	-99,3456
9	-99,5988	-99,6058	-99,9670
10	-99,5045	-99,5827	-99,8871
11	-99,7294	-99,7237	-99,2458
12	-98,9947	-98,9879	-99,3319
13	-99,7480	-99,7301	-99,9791
14	-99,4771	-99,4753	-99,5283
15	-99,7212	-99,699	-99,2646
16	-98,8066	-98,8039	-99,6833

Table 2. Desynchronization values (in percentage %) associated with each electrode, in the right hand movement situation, analysed in the beta frequency band, for the three participants (P1, P2 and P3).

The amplitudes observed previously suggest that, in fact, during the activities a signal synchronization of the electrodes occurred. In order to quantify this activity (DRE), calculations were performed in MATLAB not only with the purpose of recording the desynchronization values, but also with the objective of comparing them in the different frequency bands.

Regarding the frequency bands, as we have seen, it is known that the alpha band desynchronization is more evident in the posterior zones and in the beta band, in the lateral and anterior zones of the scalp. However, according to the results of table 1, it is possible to observe that the higher values of desynchronization (highlighted in black), correspond to anterior zones of the scalp, so it was expected that these appeared in the posterior part. It can be explained by the role of such zones on the processing of the mental activity. In table 2, the highlighted values correspond to the desynchronization of the signals of the electrodes positioned on the lateral and anterior parts of the scalp, which is in conformity with the expected one. However, the participant 3 (P3) was the one that showed a better result, and the higher percentages appear in electrodes in the posterior zone, which is characterized by the appearance of frequencies of the beta band.

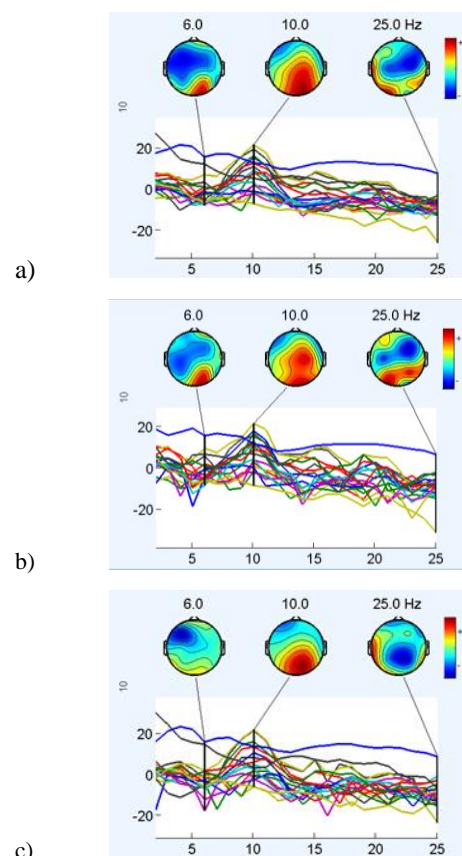


Figure 2. Spectral maps related to the activity resulting from a stimulus with the right hand, for the participant 1: a) in the total time of the stimulus; b) before the stimulus; b) after the stimulus.

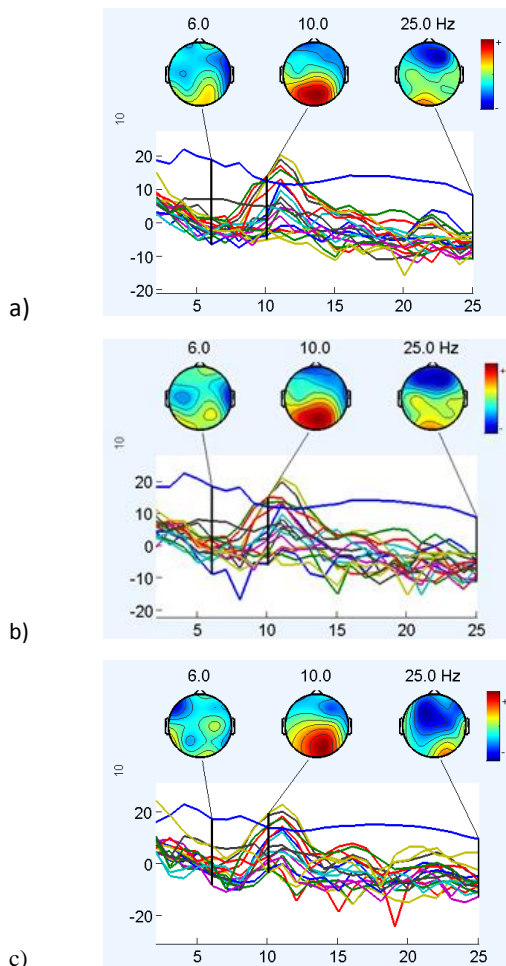


Figure 3. Spectral maps related to the activity of a left-hand stimulus, for the participant 1: a) in the total time of the stimulus; b) before the stimulus; c) after the stimulus.

After the analysis of the desynchronization values, it is also important to know what happens before and after the stimulus, in terms of signal power and amplitude. For this study, the signs were cut in the EEGLAB and spectral maps were elaborated for each participant, however, only the results of the participant 1 will be exposed here, due to the extension of data.

In figures 2 and 3 it is possible to observe that the alpha band frequencies are more prominent in the posterior region of the scalp along the right and left hand movements action.

In figure 2 c), it is clearly noticed that a greater spectral power of the scalp is observed tending more towards the left hemisphere, mainly related to an activity of the right-hand. On the other hand, in figure 3 c), it is observed that the higher power was more evident in the right side, which is related to an activity of the left-hand.

4. Conclusion

In this study, all the methods of processing EEG signals were performed with the purpose of quantifying the brain responses to stimuli. According to the literature used, it is known that the response of brain activity changes depending on the type of stimulus to which the brain is submitted and depending on the brain areas, that is, the calculation of the signal varies according to a task. The obtained results are in conformity with this assertion because, for the movement situation of the right hand and the left hand, the brain activations, in terms of power, frequency and amplitude, have changed.

The results showed that the amplitude of the resting signal was greater than that one reported during the execution of a task, when the amplitude decrease. This was related to an increase in the desynchronization. For future work and for obtaining more reliable results, it would be important to analyze the signs of more information, with a larger sample, as conclusions are more accurate and are more likely to approach the expected fundamentals

Acknowledgments

This work is supported by FCT funds, project UID/EQU/04730/2013.

5. References

- [1] Tyner, F., Knott, J., & Mayer, W. Fundamentals of Electroencephalography Technology - Basic Concepts and Methods. Vol 1. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1984 (ISBN: 089004385X).
- [2] Kumar, J., & Bhuvaneswari, P. (2012). Analysis of Electroencephalography (EEG) Signals and Its Categorization - A Study. *Internacional Conference on Modeling, Optimization and Computing (ICMOC)*, vol 38, 2012, (ISSN: 1877-7058).
- [3] Lopes da Silva, F., & Niedermeyer, E. *Electroencephalography - Basic Principles, Clinical Applications and Related Fields*, 2005 Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2005 (ISBN: 0781751268).
- [4] Pfurtscheller, G. Functional brain imaging based on ERD/ERS. *Vision Research*, vol 41, 2001, pp 1257-1260.
- [5] Vilhena, E. *Análise Quantitativa dos Potenciais Cerebrais ERP300 em Adultos-Jovens*. Fac. Eng. Univ. Porto, 2003.
- [6] Lew, Eleen et al. Self-Paced Intention Detection from Human Brain Signals: Invasive as Non-invasive EEG. *34th Annual International Conference of the IEEE EMBS*, San Diego, 2012, pp 3280-3 (ISBN: 978-1-4577-1787-1).
- [7] Web page of Neurovirtual. <http://neurovirtual.com/equipment/software-bwanalysis/> (Consulted in June 2017).
- [8] Kemp B, Värri A, Rosa AC, Nielsen KD, Gade J., A simple format for exchange of digitized polygraphic recordings, *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. 1992 May; 82(5):391-3.
- [9] Web page of SCCN. <https://scn.ucsd.edu/eeglab/index.php> (Consulted in June 2017).
- [10] Web page of MathWorks. <https://www.mathworks.com/products/matlab.html> (Consulted in June 2017).

Caracterización de los Patrones de Flujo de Información en el EEG de Pacientes con Deterioro Cognitivo Leve

S. J. Ruiz-Gómez¹, C. Gómez Peña¹, J. Poza Crespo¹, P. Núñez Novo¹, V. Rodríguez González¹, M. A. Tola-Arribas², M. Cano del Pozo³, R. Hornero Sánchez¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, saul.ruiz@gib.tel.uva.es

² Servicio de Neurología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España.

³ Servicio de Neurofisiología Clínica, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España.

Resumen

*El objetivo de este trabajo es estudiar los cambios que el deterioro cognitivo leve (DCL) provoca en los patrones de flujo de información cerebral. Para ello, se registró la actividad electroencefalográfica de 41 pacientes con DCL y 37 controles cognitivamente sanos sin diferencias significativas de edad y sexo. Para caracterizar la red neuronal de cada uno de ellos, se calculó una medida de conectividad efectiva: el índice de pendiente de fase (PSI, Phase Slope Index). Nuestros resultados muestran una disminución estadísticamente significativa del PSI en las bandas bajas de frecuencia para los pacientes con DCL, en comparación con el grupo de control (p -valor < 0.05, test *U* de Mann-Whitney). Estos patrones anormales pueden estar debidos a cambios estructurales del cerebro sufridos por los pacientes: disminución del tamaño del hipocampo, atrofia del lóbulo temporal medial o pérdida de volumen de materia gris.*

1. Introducción

El deterioro cognitivo leve (DCL) es una patología caracterizada por un déficit cognitivo superior al esperable teniendo en cuenta la edad y el nivel educativo, pero insuficiente para cumplir los criterios de demencia [1]. Aunque la actividad cognitiva de los pacientes con DCL está deteriorada, éstos mantienen su independencia en las habilidades funcionales y sociales. Estudios recientes han estimado que la prevalencia del DCL está entre el 12 y el 18% para sujetos mayores de 60 años [2]. Algunos de ellos se mantienen estables con el paso del tiempo, pero más del 50% progresa hacia distintos tipos de demencia como la debida a la enfermedad de Alzheimer (EA), la demencia vascular, la demencia debida a cuerpos de Lewy o la enfermedad de Parkinson [3]. En concreto, la tasa de conversión a demencia debido a la EA es aproximadamente de un 15% al año [3]. Por esta razón, y dado que la medicación utilizada para retrasar los síntomas es más eficaz en las primeras etapas de la demencia, es necesario un diagnóstico temprano del DCL.

La electroencefalografía (EEG) es una técnica no invasiva que registra los campos eléctricos generados por la actividad cerebral. Su alta resolución temporal permite el estudio de los procesos involucrados en la regularización de sistemas cerebrales complejos. La utilización del EEG está muy extendida gracias a su portabilidad, disponibilidad y bajo coste. Además, el EEG ha mostrado su utilidad para caracterizar la dinámica neuronal en el DCL y la EA [4,5].

Tradicionalmente, los registros cerebrales de pacientes con DCL y EA se han analizado con técnicas espectrales y métodos derivados del análisis no lineal. Las técnicas espectrales muestran una lentificación de la actividad EEG [4], mientras que los métodos no lineales sugieren una disminución de la complejidad y un aumento de la regularidad de la actividad cerebral espontánea [5]. Sin embargo, estos métodos miden la activación local a nivel de sensor sin estimar la posible interacción entre los diferentes canales EEG, lo que no es suficiente para obtener una caracterización completa de la dinámica cerebral. Por esta razón, los análisis de conectividad han centrado una gran atención en los últimos años. Estudios previos han mostrado valores menores de conectividad entre canales EEG en pacientes con DCL utilizando el coeficiente de correlación de Pearson, el módulo al cuadrado de la coherencia (*MSCOH*, Magnitude Squared Coherence) o el índice de retardo de fase (*PLI*, Phase Lag Index) [6,7]. Todas estas medidas estiman la conectividad funcional, es decir, la dependencia entre eventos neurofisiológicos remotos. Sin embargo, es esencial conocer la direccionalidad de las relaciones para caracterizar completamente la dinámica del flujo de información en la red cerebral. Para superar estas limitaciones, es necesaria la utilización de medidas de conectividad efectiva o causal (la influencia que un sistema neuronal ejerce sobre otro), como el índice de pendiente de fase (*PSI*, Phase Slope Index). La ventaja del *PSI* frente a otras medidas de conectividad efectiva, como la causalidad de Granger (*GC*), es que es insensible a falsas interacciones debidas a la conducción de volumen [8], que pueden provocar que la actividad cerebral de una sola fuente se observe en varios canales.

El objetivo de este trabajo es analizar los patrones de conectividad resultantes de la actividad EEG espontánea en un grupo de pacientes con DCL y un grupo de sujetos de control mediante una medida de conectividad efectiva (*PSI*). Con esta metodología se pretenden extraer patrones de normalidad y patrones patológicos asociados al DCL.

2. Materiales

2.1. Sujetos

Se ha analizado la actividad EEG basal de 78 sujetos: 41 pacientes con DCL (17 hombres y 24 mujeres; edad = 76.1 ± 6.8 ; media \pm desviación estándar) y 37 sujetos de control de edad avanzada (12 hombres y 25 mujeres; edad

= 76.3 ± 3.8). No se encontraron diferencias significativas entre los grupos en edad (p -valor > 0.05 , test U de Mann-Whitney) ni en género (p -valor > 0.05 , test chi-cuadrado). Para evaluar el déficit cognitivo de los sujetos se utilizó el *Mini-Mental State Examination* (MMSE) de Folstein, mientras que el estado funcional se evaluó mediante la escala *Bayer-Activities of Daily Living* (B-ADL) de Erzigkeit. Ninguno de los participantes en el estudio tomaba medicamentos que pudieran influir en el registro EEG. La tabla 1 muestra los datos sociodemográficos y clínicos para cada grupo.

Todos los participantes y los cuidadores de los pacientes fueron informados sobre la investigación y el protocolo del estudio y dieron su consentimiento escrito e informado. El Comité Ético del Hospital Universitario Río Hortega (Valladolid, España) aprobó el estudio de acuerdo al Código Ético de la Asociación Médica Mundial (Declaración de Helsinki).

2.2. Registro EEG

El registro de las señales EEG se realizó con un equipo de 19 canales (XLTEK®, Natus Medical, Pleasanton, CA). Los sujetos se encontraban relajados, despiertos y con los ojos cerrados durante la adquisición del EEG. El equipo registró las señales EEG con una frecuencia de muestreo de 200 Hz para los siguientes 19 electrodos colocados siguiendo el Sistema Internacional 10-20: Fp1, Fp2, Fz, F3, F4, F7, F8, Cz, C3, C4, T3, T4, T5, T6, Pz, P3, P4, O1 y O2.

Para minimizar la presencia de artefactos oculográficos, cardiográficos y miográficos se llevó a cabo un análisis de componentes independientes (ICA, *Independent Component Analysis*). Después, los registros fueron procesados digitalmente con un filtro FIR (*Finite Impulse Response*) con una ventana de Hamming entre 1 y 70 Hz y con un filtro de ranura para eliminar la interferencia de red (50 Hz). Por último, se seleccionaron épocas de 5 segundos libres de artefactos mediante inspección visual.

3. Métodos

3.1. Phase-Slope Index

El *PSI* es un método que estima la dirección del flujo de información entre dos series temporales a partir de la pendiente de la fase del espectro cruzado de las series temporales [8]. El espectro cruzado de las series

	Control	DCL
Número de sujetos	37	41
Edad (años)	76.3 ± 3.8	76.1 ± 6.8
Sexo (H:M) ^a	12:25	17:24
Nivel de estudios (A:B) ^b	11:26	29:12
MMSE ^c	28.8 ± 1.1	27.2 ± 1.7
B-ADL ^d	1.2 ± 0.2	3.0 ± 0.9

Tabla 1. Datos sociodemográficos y clínicos para cada grupo. Valores medios \pm desviación estándar. ^aH: hombre, M: mujer; ^bA: educación primaria o inferior, B: educación secundaria o superior; ^cMMSE: *Mini-Mental State Examination*; ^dB-ADL: *Bayer-Activities of Daily Living*.

temporales de dos canales EEG, $x_i(t)$ y $x_j(t)$, se define como

$$S_{ij}(j) = \langle \hat{x}_i(f) \hat{x}_j^*(f) \rangle, \quad (1)$$

donde $\langle \cdot \rangle$ denota el valor esperado y $\hat{x}_i(f)$ denota la transformada de Fourier de la señal $x_i(t)$.

El *PSI* se basa en el retardo asociado a la relación de causa-efecto entre las señales de dos canales EEG. Suponiendo que una serie temporal es una versión retardada de la otra, se podría escribir

$$x_j(t) = cx_i(t - \tau), \quad (2)$$

siendo c una constante de amplificación o atenuación. A partir de la definición en la Ecuación (1), el espectro cruzado de las señales $x_i(t)$ y $x_j(t)$ resulta

$$S_{ij}(f) = \langle \hat{x}_i(f) \hat{x}_j^*(f) \rangle \propto e^{i2\pi f\tau} \equiv e^{i\Phi(f)}. \quad (3)$$

A partir de la Ecuación (3) se puede observar que la fase del espectro $\Phi(f) = 2\pi f\tau$ es lineal y proporcional al retardo temporal τ . Por lo tanto, una pendiente positiva de $\Phi(f)$ indica un τ positivo, por lo que el flujo de información va desde $x_i(t)$ a $x_j(t)$. En caso contrario, una pendiente negativa indica un τ negativo y un flujo de información desde $x_j(t)$ a $x_i(t)$.

Teniendo en cuenta requisitos adicionales, como la robustez estadística y la insensibilidad de partes de la señal que no interactúan, la formulación final del *PSI* es

$$\tilde{\Psi}_{ij} = \Im(\sum_{f \in F} \text{Coh}_{ij}^*(f) \text{Coh}(f + \delta f)), \quad (4)$$

donde $\text{Coh}_{ij}(f) = S_{ij}(f) / \sqrt{S_{ii}(f)S_{jj}(f)}$ es la Coherencia compleja, S es la matriz del espectro cruzado, δf es la resolución en frecuencia en la banda de frecuencia F en la que se estima la pendiente, e $\Im(\cdot)$ denota la parte imaginaria.

Finalmente, para evaluar su nivel de significación, es conveniente normalizar $\tilde{\Psi}$ con una estimación de su desviación estándar

$$\Psi = \tilde{\Psi} / \text{std}(\tilde{\Psi}), \quad (5)$$

con $\text{std}(\tilde{\Psi})$ estimado mediante el método Jackknife [8]. Por lo tanto, un resultado dentro de un intervalo de confianza en torno a cero no sería interpretable. De esta forma se consigue mejorar la robustez y fiabilidad del método [8].

3.2. Análisis estadístico

Inicialmente se realizó un análisis descriptivo para analizar la distribución de los valores de *PSI*. Puesto que no cumplían las hipótesis de normalidad y homocedasticidad de los test paramétricos, se utilizó el test U de Mann-Whitney para evaluar las diferencias entre grupos.

4. Resultados

Los resultados obtenidos mediante el *PSI* son dependientes de la frecuencia, se promediaron para cada una de las bandas clásicas: δ (1-4 Hz), θ (4-8 Hz), α (8-13 Hz), β_1 (13-19 Hz), β_2 (19-30 Hz) y γ (30-70 Hz).

La Figura 1 muestra los valores promedios para cada uno de los grupos en aquellas conexiones que mostraron diferencias estadísticamente significativas. Esta figura muestra también los p -valores correspondientes siguiendo el código de color mostrado, de tal forma que los tonos rojos indican un incremento significativo de los valores

de conectividad en los pacientes con DCL en comparación con los controles, mientras que los tonos azules denotan decrementos significativos. Es importante mencionar que no se ha utilizado ningún tipo de corrección para contrarrestar el problema de las comparaciones múltiples.

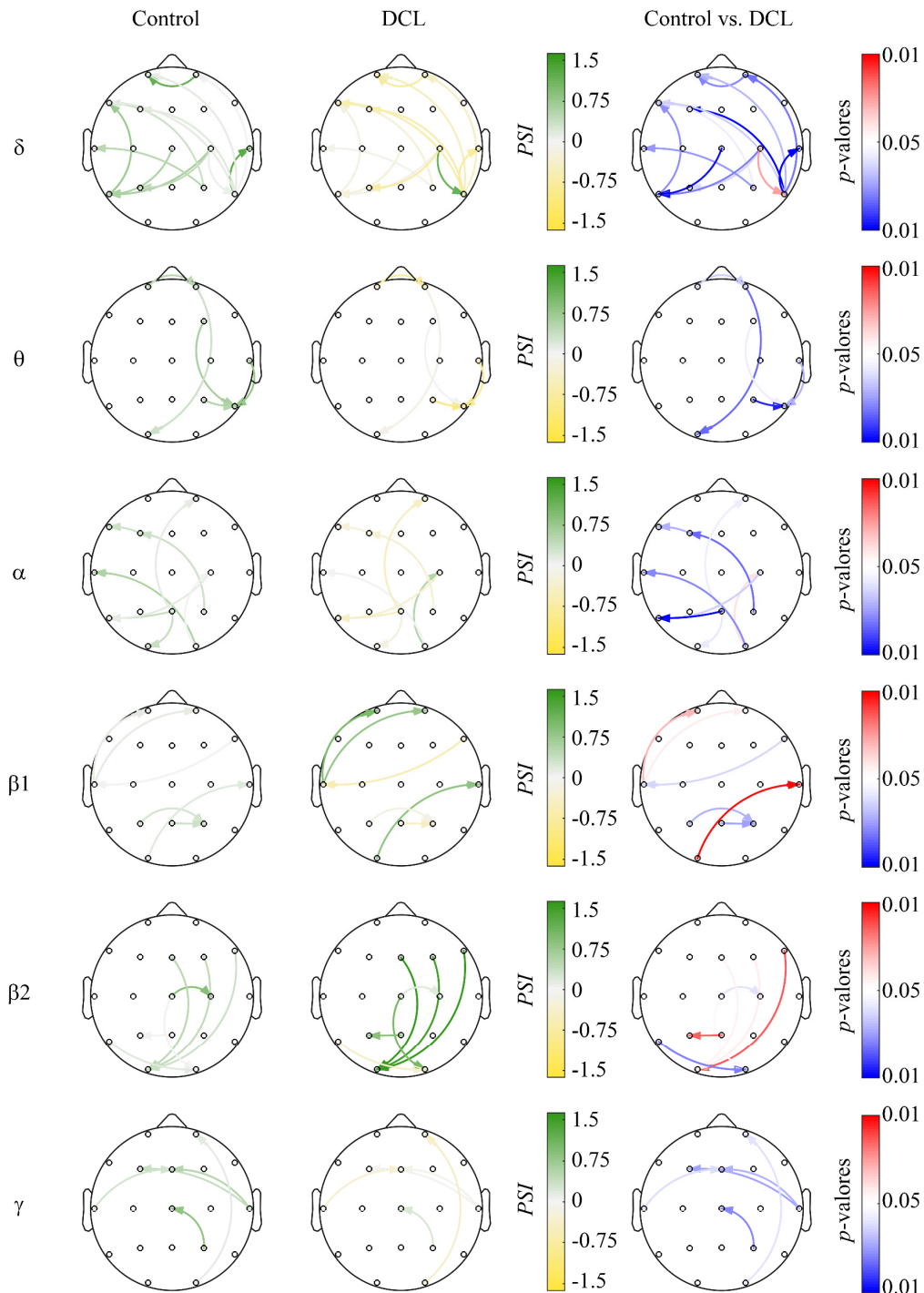


Figura 1. Patrones de conectividad obtenidos con el PSI para los sujetos de control y los pacientes con DCL. Las flechas indican el sentido del flujo de información. La columna de la derecha muestra las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos: los tonos rojos indican un aumento significativo de la conectividad en los pacientes con DCL en comparación con los controles, mientras que los tonos azules indican un decremento. Únicamente se han mostrado las conexiones en las que se hallaron diferencias estadísticamente significativas (p -valores < 0.05 ; test U de Mann-Whitney)

Nuestros resultados reflejan que la actividad EEG en pacientes con DCL está caracterizada por un decremento de la conectividad para la mayoría de las bandas de frecuencia. En cuanto a los patrones de conectividad, el *PSI* muestra una disminución significativa del flujo de información desde las regiones laterales hacia la región frontal en las bandas δ y γ , desde la zona frontal hacia la zona posterior en la banda θ , y desde las zonas central y posterior hacia la zona lateral izquierda en las bandas δ y α . Por el contrario, las bandas β_1 y β_2 parecen bandas de transición, pues aparecen tanto aumentos como decrementos significativos de los valores de *PSI*.

5. Discusión y conclusiones

En este estudio se han analizado los registros EEG de 41 pacientes con DCL y 37 sujetos de control utilizando el *PSI* como medida de conectividad. Nuestros resultados muestran que los valores obtenidos para el *PSI* son significativamente menores para los pacientes con DCL en las bandas bajas de frecuencia. Estudios previos aplicando medidas causales a registros EEG y fMRI muestran un menor nivel de conectividad entre diferentes áreas cerebrales [9,10]. Esta disminución de la conectividad efectiva entre los canales EEG puede estar asociada a los déficits cognitivos y de memoria del DCL.

Además, el *PSI* muestra una alteración de los patrones de flujo de información en todas las bandas de frecuencia, siendo más destacables en conexiones de larga distancia y en bandas bajas de frecuencia. Estos resultados coinciden con estudios previos que muestran una disminución de conectividad entre la región frontal y las zonas lateral y posterior en las bandas δ y θ , utilizando medidas funcionales como el *PLI* [6] y la *MSCOH* [7]. Otros estudios que utilizan medidas causales como la *GC* y la *Directed Transfer Function (DTF)* también evidencian una disminución de la conectividad entre las zonas frontal y posterior, a pesar de que las bandas de frecuencia afectadas difieren [7,11]. Esta disparidad puede deberse a la heterogeneidad del DCL, a las diferentes técnicas de neuroimagen utilizadas, a las distintas medidas de conectividad aplicadas o a varios de estos factores. Desde el punto de vista clínico, estos patrones anormales observados pueden estar debidos a cambios estructurales del cerebro sufridos por los pacientes con DCL: disminución del tamaño del hipocampo, atrofia del lóbulo temporal medial o pérdida de volumen de materia gris [12].

Es importante mencionar varias limitaciones de este estudio. En primer lugar, la población analizada es insuficiente para obtener conclusiones significativas, por lo que sería necesario contar con una población de sujetos mayor para aumentar la potencia estadística de los resultados. En segundo lugar, en este trabajo se han analizado todas las combinaciones posibles entre los distintos electrodos EEG, por lo que sería interesante dividir el cerebro en regiones para tratar de facilitar la interpretación de los resultados a pesar de perder resolución espacial. Además, únicamente se ha utilizado una medida de conectividad para caracterizar los patrones de conectividad (*PSI*), por lo que se podrían calcular otras

medidas de conectividad efectiva como la *GC*, la *DTF* o la *Partial Directed Coherence (PDC)*.

Se concluye que el análisis de la actividad EEG mediante el *PSI* muestra que el DCL provoca cambios significativos en la actividad cerebral de los pacientes. Este estudio constituye un paso inicial para demostrar la posible aplicación de novedosas medidas de conectividad efectiva, como el *PSI*, para la caracterización del DCL en etapas tempranas.

Agradecimientos

Este estudio ha sido parcialmente financiado por el proyecto TEC2014-53196-R del Ministerio de Economía y Competitividad y FEDER, el proyecto ‘Análisis y correlación entre el genoma completo y la actividad cerebral para la ayuda en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer’ (Programa de cooperación inter-regional V-A España-Portugal POCTEP 2014-2020) de la Comisión Europea y FEDER, y el proyecto VA037U16 de la Consejería de Educación y FEDER. Pablo Núñez y Saúl José Ruiz disfrutaron de una beca predoctoral cofinanciada por la Junta de Castilla y León y FEDER.

Referencias

- [1] Winblad B *et al.* Mild cognitive impairment - Beyond controversies, towards a consensus: Report of the International Working Group on Mild Cognitive Impairment. *J. Intern. Med.*, vol. 256, 2004, pp. 240–6.
- [2] Petersen RC. Mild cognitive impairment. *Contin. (Minneapolis)*, vol. 22, 2016, pp. 404–18.
- [3] Davatzikos C *et al.* Prediction of MCI to AD conversion, via MRI, CSF biomarkers, and pattern classification. *Neurobiol. Aging*, vol. 32, 2011, pp. 1–17.
- [4] Baker M *et al.* EEG Patterns in mild cognitive impairment patients. *Open Neuroimag. J.*, vol. 2, 2008, pp. 52–5.
- [5] Stam CJ. Nonlinear dynamical analysis of EEG and MEG: Review of an emerging field. *Clin. Neurophysiol.*, vol. 116, 2005, pp. 2266–301.
- [6] Tóth B *et al.* EEG network connectivity changes in mild cognitive impairment - Preliminary results. *Int. J. Psychophysiol.*, vol. 92, 2014, pp. 1–7.
- [7] Gómez C *et al.* Alterations of Effective Connectivity patterns in Mild Cognitive Impairment: An MEG study. *J. Alzheimer's Dis.* Aceptado, 2017.
- [8] Nolte G *et al.* Robustly estimating the flow direction of information in complex physical systems. *Phys. Rev. Lett.*, vol. 100, 2008, pp. 1–5.
- [9] Dauwels J *et al.* A comparative study of synchrony measures for the early diagnosis of Alzheimer's disease based on EEG. *Neuroimage*, vol. 49, 2010, pp. 668–93.
- [10] Liu Z *et al.* Exploring the effective connectivity of resting state networks in mild cognitive impairment: an fMRI study combining ICA and mGCA. *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.*, 2012, pp. 5454–7.
- [11] Vecchio F & Babiloni C. Direction of information flow in Alzheimer's Disease and MCI patients. *Int. J. Alzheimers. Dis.*, vol. 2011, 2011, pp. 1–7.
- [12] Karas GB *et al.* Global and local gray matter loss in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease. *Neuroimage*, vol. 23, 2004, pp. 708–16.

Promediado de potenciales de acción de unidad motora basado en ventanas deslizantes

A. Malanda Trigueros¹, I. Rodríguez Carreño², J. Navallas Irujo¹, J. Rodríguez Falces¹, M. Fernández Martínez¹, L. Gila Usero³

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

² Departamento de Economía, Universidad de Navarra, Pamplona, España, irodriguez@unav.es

³ Servicio de Neurofisiología, Complejo Hospitalario de Navarra, Pamplona, España, luis.gila.useros@cfnavarra.es

Resumen

En la electromiografía cuantitativa, un tren de potenciales de acción de unidad motora (PAUM) es representado por una única curva, de la que se determinan varios parámetros que sirven para caracterizarla de cara al diagnóstico neurofisiológico. Existen varios métodos para extraer esta curva representativa. En este trabajo se presenta un nuevo método basado en el uso de ventanas deslizantes y se compara con varios de los métodos existentes de extracción de curvas representativas a partir de trenes de PAUMs. Para el estudio se empleó una colección de PAUMs extraídos de músculos sanos y patológicos (miopáticos, neurógenos subagudos y neurógenos crónicos). Para las comparaciones se hizo uso de curvas patrón (“gold standard”) obtenidas de forma manual por un experto electromiografista y se emplearon varias figuras de mérito, que recogen las diferencias en la forma de las curvas representativas con el “gold standard”. Los resultados indican que el nuevo método mejora las prestaciones del resto de métodos evaluados, para todos los grupos de sujetos bajo estudio, siendo, por tanto, de gran valor en el análisis de PAUMs con fines diagnósticos.

1. Introducción

El análisis del potencial de acción de unidad motora (PAUM) es una herramienta fundamental en la electromiografía (EMG) clínica. Las señales de EMG registradas de manera intramuscular por medio de electrodos de aguja contienen generalmente varios trenes de PAUMs. Para separar estos trenes se pueden utilizar procedimientos manuales, semiautomáticos o completamente automáticos [1-2], a partir de los cuales se construyen curvas representativas que se caracterizan cuantitativamente por medio de parámetros que contienen información de utilidad clínica [1, 3-4].

La literatura especializada recoge diversos métodos de promediado para extraer formas de onda representativas a partir de potenciales bioeléctricos repetitivos de diferente origen: EMG (PAUMs), potenciales evocados o señales electrocardiográficas. Recientemente se publicó una revisión general de tales métodos junto con el análisis comparativo de varios de ellos [5].

Aquí se presenta un nuevo método de promediado de trenes de PAUMs basado en ventanas deslizantes. El presente estudio evalúa las prestaciones del nuevo método en PAUMs registrados en músculos normales y patológicos.

2. Materiales

El material empleado en este estudio cuenta con la aprobación expresa del Comité Ético de la Universidad Pública de Navarra. Se usaron 313 señales de EMG de 5s de duración, adquiridas durante contracciones voluntarias débiles: 68 señales tomadas de 14 músculos deltoides normales, 105 de músculos con miopatías, 27 de músculos neurógenos crónicos y 72 de músculos neurógenos subagudos. Las señales patológicas procedían de diferentes músculos: tibial anterior, gastrocnemio medial, abductor digital mínimo, abductor del dedo gordo, primer interóseo dorsal, extensor digital común, abductor corto del pulgar y vasto medial. Las señales fueron adquiridas con un equipo de EMG Synergy Mobile (Oxford Instruments Medical, Inc.) usando electrodos concéntricos tipo DCN37 (diámetro= 0.46 mm, área de registro= 0.07 mm²) de la casa Medtronic. Se empleó un filtro paso banda antialiasing de frecuencias de corte de 3 Hz y 10 kHz, y el muestreo se realizó a una frecuencia de 20 kHz y con 16 bits de resolución.

Se utilizó un método automático de descomposición [6] para extraer uno o varios trenes de PAUMs de cada señal de EMG. Los potenciales de cada tren se guardaron en secciones de señal de 50 ms. El pico máximo negativo del PAUM se centró en el 40 % de la longitud de la ventana (20 ms). A continuación los potenciales aislados de cada tren fueron alineados en el eje temporal utilizando el criterio de máxima correlación [7-8] y en el eje de amplitudes usando un algoritmo para minimizar la distancia euclídea [9]. Por otro lado, se implementó en Matlab una herramienta software interactiva para visualizar los PAUMs y permitir la exclusión manual de potenciales inadecuados (excesivamente ruidosos, pequeños o corrompidos por potenciales de otros trenes). Se comprobó que todos los potenciales seleccionados para el estudio estaban bien definidos sobre la línea de base y presentaban un tiempo de subida (“rise-time”) de menos de 1 ms. Por último, se descartaron los trenes de PAUMs con menos de 50 potenciales, siendo éste el tamaño mínimo de los trenes fijado para el análisis comparativo. Al final se aceptaron un total de 218 trenes de PAUMs: 37 de músculos normales, 69 de miopáticos, 64 de neurógenos subagudos y 48 de neurógenos crónicos.

3. Métodos

3.1. Método de promediado basado en ventanas deslizantes (PVD)

Los N potenciales $x_i(n)$ del tren se dividen en secciones empleando una ventana deslizante de longitud L_w .

$$x_{ij}(n) = x_i(n+j), \quad 0 \leq n \leq L_w - 1, \quad i = 1, \dots, N \quad (1)$$

Para cada intervalo temporal (localización j de la ventana), se calcula una “sección mediana” entre todas las secciones $x_{ij}(n)$ del tren.

$$x_{j,med}(n) = \underset{i=1..N}{median} \{x_{ij}(n)\}, \quad 0 \leq n \leq L_w - 1 \quad (2)$$

También se calcula la desviación estándar mínima de las amplitudes de las muestras en el intervalo.

$$\sigma_{j,min} = \min_{n=0..L_w-1} \{SD \{x_{ij}(n)\}\} \quad (3)$$

Las secciones $x_{ij}(n)$ cuya distancia euclídea a la “sección mediana” es menor que el parámetro $\sigma_{j,min}$ son seleccionadas y promediadas, obteniéndose una curva representativa, $y_j(n)$, del intervalo.

$$\text{if } \|x_{ij}(n) - x_{j,med}(n)\| < \sigma_{j,min}, \text{ then } i \in I_j^{valid} \quad (4)$$

$$y_j(n) = \underset{i \in I_j^{valid}}{mean} \{x_{ij}(n)\}, \quad 0 \leq n \leq L_w - 1 \quad (5)$$

La ventana se desplaza una muestra ($j=j+1$) y se repite la operación, y así hasta finalizar toda la extensión del potencial. Finalmente las secciones representativas se desplazan en el tiempo y se promedian.

$$\hat{y}(n) = \frac{1}{L_w} \cdot \sum_{j=1}^{L_w} y_j(n-j) \quad (6)$$

Llamaremos a este método promediado basado en ventanas deslizantes (PVD). Para su evaluación se utilizaron tres versiones diferentes, con longitudes de ventana de 50, 150 y 250 muestras (2.5, 7.5 y 12.5 ms). Estos valores se tomaron a partir de pruebas experimentales preliminares, para obtener figuras de mérito (ver Sección 3.4) optimizadas, pero manteniendo cierta variabilidad en el método. Llamaremos a estas configuraciones PVD 1, PVD 2 y PVD 3, respectivamente.

3.2. Métodos de promediado convencionales

El PVD se comparó con otros tres métodos de promediado para la extracción de ondas representativas a partir de trenes de PAUMs:

- Promediado convencional (PC)
- Promediado de mediana (PM) [10]
- Promediado de los 5 potenciales más próximos entre sí en términos de la distancia euclídea (PCMP) [5].

En el estudio comparativo mencionado [5], PM obtuvo los mejores resultados. PC no quedó entre los mejores, pero es el más simple de los métodos de promediado y sirve como referencia general para la comparación. Por su parte, PCMP obtuvo resultados intermedios.

3.3. Gold standard

Para obtener las curvas “gold standard” (CGS) de los trenes de PAUMs, los potenciales del tren se superpusieron en la

misma gráfica y se marcaron manualmente los puntos de inicio y fin del tren. A continuación se seleccionó un subconjunto de potenciales similares dentro del intervalo marcado por estos puntos y finalmente se obtuvo su curva promedio. Un especialista en Neurofisiología, coautor del trabajo, (LGU), realizó la marcación manual y la selección de potenciales utilizando una herramienta gráfica interactiva diseñada al efecto.

3.4. Figuras de mérito

Se usaron dos tipos de figuras de mérito: figuras de similitud de curvas y parámetros de cuantificación del PAUM.

A) Figuras de similitud de curvas (FSC)

Miden la similitud general entre una curva representativa del PAUM y la CGS. Se consideraron tres figuras:

- Potencia de error normalizada (PEN): potencia media de la señal de diferencia entre la curva analizada y la CGS dentro de los límites de la duración del PAUM, normalizada a la potencia media de la curva analizada.
- Potencia de la línea de base (PLB): potencia media de la curva analizada fuera de los límites de la duración del PAUM, dividida por la potencia media de la curva analizada dentro de los límites de la duración del PAUM.
- Derivada de la potencia de error (DPE): potencia media de la derivada de la diferencia entre la curva analizada y la CGS, dentro de los límites de la duración del PAUM, normalizada a la potencia media de la derivada de la curva analizada.

B) Parámetros de cuantificación del PAUM (PCP)

Son parámetros usados en EMG cuantitativa para describir el PAUM. Encierran información sobre la estructura, tamaño y funcionamiento de las unidades motoras, por lo que son de interés en la evaluación clínica neurofisiológica. En el estudio se usaron seis parámetros ampliamente aceptados para caracterizar el PAUM [11-12], calculados dentro de los límites de duración del PAUM:

- Amplitud pico a pico (mV).
- Área de la curva rectificadas (mV·ms).
- Número de fases: número de cruces por la línea de base más uno. Se exige que la curva exceda un umbral de 20 μ V por encima de la línea de base.
- Número de “turns” (“giros”): número de picos positivos y negativos que difieren en amplitud del pico anterior de polaridad opuesta más de un determinado umbral. Se usaron dos umbrales diferentes, 25 μ V y 50 μ V, ambos utilizados en estudios previos [13-14].
- Coeficiente de irregularidad [4]: mide la longitud de la curva del PAUM normalizada por su amplitud pico a pico. Se calcula como la suma de las diferencias en valor absoluto de las muestras consecutivas de la curva, dividida por su amplitud pico a pico.
- Duración de la espiga (ms): intervalo entre los dos picos máximos positivos anterior y posterior al pico máximo negativo del potencial.

Las medidas de error se calcularon como las diferencias entre los parámetros de la curva generada por el método analizado y los de la CGS. Estos errores se normalizaron dividiendo el correspondiente error por el PCP de la CGS. En el caso del número de “turns”, se calcularon dos figuras de mérito: errores de “turn” por defecto y por exceso, considerándose coincidentes (sin error) el “turn” de una curva y el de la CGS, si sus respectivas localizaciones temporal no excedían de 0.25 ms (5 muestras).

4. Resultados

Para estudiar el comportamiento de los seis métodos en cuanto a las FSCs, se establecieron 12 escenarios diferentes: combinaciones posibles de los 4 grupos de sujetos y las 3 figuras de similitud de curvas estudiadas. En cada escenario se determinó el método que obtuvo mejores resultados estadísticos (“método vencedor”) y los métodos cuyos errores resultaron significativamente mayores que el “método vencedor”. Las Tablas 1 y 2 muestran para cada

	PC	PM	PCMP	PVD 1	PVD 2	PVD 3	Media
Normales	33.33	0	100	0	0	0	22.22
Miopáticos	100	66.67	100	66.67	0	0	55.56
Neurógenos subagudos	100	66.67	100	66.67	66.67	0	66.67
Neurógenos crónicos	66.67	0	100	0	0	0	27.78
Media	75.0	33.33	100	33.33	16.67	0	43.06

Tabla 1. Porcentajes de escenarios en los que el error en las FSC fue significativamente mayor que el “método vencedor”, promediando por figuras de similitud.

	PC	PM	PCMP	PVD 1	PVD 2	PVD 3	Media
PEN	100	50.0	100	50.0	25.0	0	54.17
PLB	75.0	0	100	0	0	0	29.17
DPE	50.0	50.0	100	50.0	25.0	0	45.83
Media	75.0	33.33	100	33.33	16.67	0	43.06

Tabla 2. Porcentajes de escenarios en los que el error en las FSC fue significativamente mayor que el “método vencedor”, promediando por grupos de sujetos.

	PC	PM	PCMP	PVD 1	PVD 2	PVD 3	Media
Normales	50.0	16.67	87.5	33.33	16.67	0	34.03
Miopáticos	58.33	33.33	37.5	0	0	0	21.53
Neurógenos subagudos	37.5	0	95.83	0	0	0	22.22
Neurógenos crónicos	87.5	16.67	95.83	0	0	0	33.33
Media	58.33	16.67	79.17	8.33	4.17	0	27.78

Tabla 3. Porcentajes de escenarios en los que en los que el error del PCP fue significativamente mayor que el “método vencedor”, promediando por PCPs.

	PC	PM	PCMP	PVD 1	PVD 2	PVD 3	Media
Amplitud	25.0	0	75.0	0	0	0	16.67
Área	75.0	25.0	75.0	25.0	25.0	0	37.5
Num. fases	50	0	100	25.0	0	0	29.17
Coefficiente de irregularidad	100	25.0	50.0	0	0	0	12.5
Turns defecto (Umb= 50 μ V)	0	0	100	0	0	0	16.67
Turns defecto (Umb= 25 μ V)	75.0	0	100	0	0	0	29.17
Turns exceso (Umb= 50 μ V)	0	0	100	0	0	0	16.67
Turns exceso (Umb= 25 μ V)	25.0	0	100	0	0	0	20.83
Duración de la espiga	75.0	50.0	100	0	0	0	33.33
Media	58.33	16.67	79.17	8.33	4.17	0	27.78

Tabla 4. Porcentajes de escenarios en los que en los que el error del PCP fue significativamente mayor que el “método vencedor”, promediando por grupos de sujetos.

grupo de sujetos los porcentajes de escenarios en los que los distintos métodos obtuvieron errores significativamente mayores que el “método vencedor”, promediando las tres figuras de similitud (Tabla 1), o los cuatro grupos de sujetos (Tabla 2). La última fila en estas tablas muestra la media de los porcentajes evaluada entre los tres FSCs y los cuatro grupos de sujetos.

De forma similar, para estudiar el comportamiento de los distintos métodos en cuanto a los PCPs, se establecieron 36 escenarios diferentes: combinaciones posibles de los 4 grupos de sujetos y los 9 parámetros del PAUM estudiados. Las Tabla 3 y 4 muestran los porcentajes de escenarios en los que el error en el PCP fue significativamente mayor que el “método vencedor” para cada uno de los grupos de sujetos, promediando los nueve PCPs (Tabla 3) o los cuatro grupos de sujetos (Tabla 4). Para calcular estos porcentajes, los cuatro parámetros relacionados con los “turns” (errores por defecto y por exceso, y umbrales de 25 y 50 μV) se promediaron previamente. La última fila en estas dos tablas muestra la media de los porcentajes entre los nueve PCPs y los cuatro grupos de sujetos. Estas medias (en las cuatro Tablas) serán consideradas como el error global de los métodos evaluados.

Los mejores resultados se obtuvieron para PVD 3, en el que los errores de FSC y de PCP no fueron significativamente mayores que los del “método vencedor” en ninguno de los escenarios considerados (error global de 0% para ambas figuras de mérito). El segundo mejor método fue PVD 2, (errores globales de 16.67 % y 4.17% para FSC y PCP, respectivamente). El tercer método fue PVD 1 y el cuarto PM. Por último, PC y PCMP obtuvieron las peores prestaciones, con errores globales muy superiores al resto.

5. Conclusiones

1. Las prestaciones del método de promediado basado en ventanas deslizantes (PVD) han sido comparadas con las de otros métodos de promediado de trenes de PAUMs, usando señales de EMG de músculos normales, miopáticos, neurógenos subagudos y neurógenos crónicos. El método PVD obtuvo las mejores prestaciones en términos de similitud de las curvas y de los parámetros de cuantificación del PAUM con respecto a curvas “gold standard” obtenidas manualmente.
2. El método PVD presentó un rendimiento superior a los otros métodos para un rango de valores de la ventana de análisis de 7.5 a 12.5 ms. Para las señales de estudio empleadas en este trabajo una ventana de análisis de 12.5 ms fue la que dio el mejor rendimiento. Para señales con mayor presencia de potenciales interferentes (por ejemplo, registros continuos en contracciones de nivel de fuerza moderadas) es esperable que otras ventanas de menor longitud (de 2.5 a 7.5 ms) resulten más apropiadas, haciendo que el método PVD supere aún más a otros métodos de promediado de trenes de PAUMs.
3. El comportamiento del método PVD ante trenes de PAUMs cuyas curvas varían considerablemente (alto nivel de “jiggle”), que suelen aparecer en estados patológicos en los que el funcionamiento de la unidad

motora es inestable, no ha sido probados en este estudio, requiriéndose nuevas investigaciones para analizar la adecuación del método en este interesante caso.

4. El método PVD proporciona mejoras claras en precisión y fiabilidad a la hora de extraer curvas representativas de los trenes de PAUMs y puede resultar, por tanto, de utilidad clínica diagnóstica.

Agradecimientos

Trabajo financiado por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte (Proyecto TEC2014-58947-R).

Referencias

- [1] Nandedkar SD. Quantitative analysis: objective and interactive assessment in electromyography. In T. E. Bertorini (ed), *Clinical evaluation and diagnostic tests for neuromuscular disorders*. Butterworth Heinemann, Amsterdam, 2002.
- [2] Merletti R, Parker P.A.(eds) *Electromyography, Physiology, Engineering and non invasive applications*. Piscataway, NJ: IEEE Press Series in Biomedical Engineering, 2004.
- [3] Stålberg EV, Andreassen S, Falck B, Lang H, Rosenfalck A, Trojaborg W. Quantitative analysis of individual motor unit potentials: a proposition for standardized terminology and criteria of measurement. *J Clin Neurophysiol* 1986;3:313–48.
- [4] Zaleska E, Hausmanowa-Petrusewicz I. *IEEE Trans Biomed Eng.* 1995 Jun;42(6).
- [5] Malanda A, Navallas J, Rodríguez J, Rodríguez I, Gila L. Averaging methods for extracting representative waveforms from motor unit action potential trains. *J Electromyogr and Kinesiol.* 2015 Aug;25(4):581-95.
- [6] Florestal JR, Mathieu PA, Malanda A. “Automatic decomposition of intramuscular electromyographic signals”. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. Vol 53, no. 5, May 2006. pp. 832-839.
- [7] Proakis JG, Manolakis DG. *Digital signal processing. Principles, algorithms and applications (Third edition)*. Prentice-Hall International, 1996.
- [8] Campos C, Malanda A, Gila L, Segura V, Lasanta M.I., Artieda J. Quantification of jiggle in real electromyographic signals. *Muscle and Nerve*. 23, pg. 1022-1034, 2000.
- [9] Navallas J, Malanda A, Gila L, Rodríguez J, Rodríguez I, Florestal JR, Mathieu PA. “An algorithm for optimal discharge selection for MUAP waveform extraction”. *XVth Congress of the International Society of Electrophysiology and Kinesiology (ISEK 2006)*. Torino, 2006.
- [10] Antoni L. *AiD: computer programs for automatic EMG analysis*. Balinge, Sweden, 1983.
- [11] Stålberg E, Nandedkar SD, Sanders DB, Falck B. Quantitative motor unit potential analysis. *J Clin Neurophysiol* 1996;13:401-422.
- [12] Zaleska E, Hausmanowa-Petrusewicz I. Effectiveness of motor unit potentials classification using various parameters and indexes. *Clin Neurophysiol.* 2000 Aug;111(8):1380-7.
- [13] Stålberg E, Falck B, Sonoo M, Stålberg S, Aström M. Multi-MUP EMG analysis--a two year experience in daily clinical work. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1995 Jun;97(3):145-54.
- [14] Pfeiffer G, Kunz K. Turn and phase counts of individual motor unit potentials: correlation and reliability. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*, 85 (1992): 161-65.

Improvement of non-invasive intrauterine pressure estimation based on Electrohysterogram

C. Benalcazar-Parra¹, C. Sempere¹, J. Mas-Cabo¹, Y. Ye-Lin¹, J. Alberola-Rubio², A. Perales Marin²,
A. López-Corral², J. García-Casado¹, G. Prats-Boluda¹

¹ Centro de investigación e innovación en bioingeniería, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, {carbepar, yiye, jgarcia, gprats}@ci2b.upv.es, {jamaca1}@etsid.upv.es, {carsensa}@etsii.upv.es,

² Servicio de Obstetricia y Ginecología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia, Valencia, España,

Abstract

Intrauterine pressure (IUP) signal is the “gold standard” for monitoring uterine contractions, whose main disadvantage is its invasiveness. Electrohysterography (EHG) is the measurement of uterine electrical activity that can be recorded at abdominal surface. Due to the relationship between electrical and mechanical activity of the uterine muscle, IUP estimations can be obtained using EHG parameters. Literature have reported Teager, root-mean-square (RMS) and non-normalized first moment as promising parameters for IUP estimation but estimation errors should be reduced. The aim of this study was therefore to improve intrauterine pressure estimations from surface EHG in women at active labor by optimizing signal bandwidth and window length of analysis. To perform this, IUP and EHG signals were recorded simultaneously from 10 women during active labor. RMS, Teager energy and unnormalized first statistical moment of the spectrogram were extracted from EHG signals in two bandwidths (0.2-1Hz and 0.34-1 Hz) and different window length (15s, 30s, 45s and 60s) for IUP estimation. The best result was obtained for a generalized model using Teager energy in the bandwidth 0.34-1Hz being the window length 30 seconds and achieving a value of RMSerror 9.52 ± 2.57 mmHg which improves other reported results. This result supports the possibility of using EHG to estimate IUP, which would be very useful in obstetrics given the non-invasive nature of this technique.

1. Introduction

Monitoring uterine dynamics is essential to assess the progress of pregnancy and labor. Records based on pressure measurement are used in clinical setting. The gold standard is the intrauterine pressure measurement (IUP), which consists in the introduction of a catheter directly into the uterine cavity to detect pressure changes elicited by the presence of contractions. The invasiveness of this technique is its major limitation since it is required the rupture of membranes. In common clinical practice, pressure records are performed non-invasively using a tocodynamometer [1]. Surface tocography (TOCO) consists of placing a pressure sensor on abdominal surface to detect changes in abdominal contour as an indirect indication of uterine contraction. However this technique often experiences loss of contractions [1], is uncomfortable for the patient due to the use of tight straps and also the measurement could be affected by sensor position therefore repositioning of sensor may be required.

Since there is a relationship between electrical and mechanical activity, Electrohysterography (EHG) has emerged as an alternative technique for noninvasive monitoring uterine dynamics.[1]. It consists in the recording of uterine myoelectrical activity by placing contact electrodes on the abdominal surface. Besides the better performance compared to TOCO in detecting uterine contraction [1,2], it has been proven to provide additional information about uterine contractions efficiency which has been widely used, at research level, for preterm labor prediction [3], prediction of labor onset type (vaginal vs induced) [4], characterization of uterine myoelectrical response to labor induction drugs [2] among other applications. One of the factors that has limited its use in clinical context is that clinicians are not familiar with this signal and its interpretation but to traditional pressure records. Estimating IUP morphology and amplitude from EHG could on one hand overcome current limitations of pressure techniques (TOCO and IUP) to monitor uterine contractions and on the other hand facilitate the clinical use of EHG in obstetrics.

To date parameters from EHG signals, such as Teager energy [5], unnormalized first statistical moment [6] and RMS [7], have been computed for the IUP estimation. Although good correlations between estimated signals and IUP had been reported, the mean errors reported are greater than 13 mmHg. Therefore, the aim of this study was to improve the currently available methods for IUP estimation by analyzing different EHG signal bandwidths and assessing different window lengths for calculation of each EHG parameter.

2. Materials and Methods

2.1. Signal acquisition

The records were obtained from women who were in the active phase of labor, regardless of whether the labor has started spontaneously or has been induced, in Hospital Universitario y Politécnico de La Fe de Valencia. The study adheres to the Helsinki Declaration and was approved by the hospital ethics committee. All volunteers were informed of the nature of the study, the recording protocol and provided written informed consent. A total of 10 recording sessions were carried out and the recording

time was between 1 and 4 hours per session. For each recording, the skin was carefully prepared using exfoliating gel (Nuprep, Weaver and Company, USA) to reduce skin-electrode impedance. Subsequently, 8 monopolar disposable Ag/AgCl electrodes (red dot 2560, 3M, USA) were placed on the patient's abdomen (Figure 1): 3 electrodes in the supraumbilical zone, 3 electrodes in the subumbilical zone, 1 reference electrode in the right hip and 1 ground electrode in the left hip.

The EHG signals were amplified and filtered in the range [0.1, 150] Hz using a custom made biosignal amplifier developed by the research group [8] and acquired with a sampling frequency of 500 Hz. Simultaneously, IUP signal was acquired by placing a pressure catheter directly into the uterine cavity, which is connected to a Corometrix 250cx series monitor (GE HealthCare, General Electric Company, USA) that acquires the IUP signal and sends the data to a Computer via serial port with a sampling frequency of 4 Hz. Both EHG and IUP signals were stored for subsequent analysis.

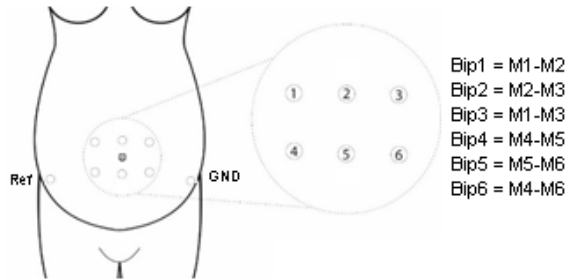


Figure 1. Electrode's arrangement for obtaining EHG records

2.2. Signal processing

Since the EHG signal energy is mainly distributed in the bandwidth between 0.1 and 4 Hz, EHG signals were band pass filtered and down-sampled (f_s) at 20 Hz to reduce the amount of data and computational cost. Then, bipolar signals were computed as indicated in the figure 1. The IUP estimation was performed on all bipolar signals. Nonetheless results are only shown for Bip3 since it usually presented the highest signal to noise ratio and best results.

Two different bandwidths (0.2-1 Hz and 0.34-1 Hz) were employed by filtering the EHG signal with a 5th order Butterworth filter and the cutoff frequencies were adjusted according to the bandwidth analyzed. Additionally, four different moving ($\Delta t=1/f_s=0.25s$) window lengths ($K=15, 30, 45$ and 60 seconds) were considered for the computation of the following parameters.

- **Teager energy:** consists in the calculation of the instantaneous energy. This energy is directly proportional not only to the square of the amplitude but also to the square of the frequency [9]. In the discrete time domain, the Teager operator can be defined as:

$$\Phi[n] = x[n]^2 - x[n+1]x[n-1] \quad (1)$$

Where $x[n]$ is the filtered signal in the corresponding analysis bandwidth

The sequence $TE(n)$ is obtained applying the moving average Teager energy over a $M = K \cdot f_s$ samples interval.

$$TE[n] = \left[\frac{1}{M} \sum_{m=-M/2}^{+M/2} \Phi[x[m+n]] \right]^{\frac{1}{2}} \quad (2)$$

- **Unnormalized first moment (UNFM):** is another method of estimating the IUP signal, which calculates the energy of the EHG signal from the spectrogram. The time-frequency representation of the signal EHG ($\rho[n, f]$) is calculated with a Hamming window $\omega[m]$.

$$\rho[n, f] = \left| \sum_{m=-\infty}^{+\infty} x[m] \omega[m-n] e^{-j2\pi f m} \right|^2 \quad (3)$$

Then, the unnormalized first statistical moment UNFM[n] is calculated by scaling $\rho[n, f]$ by its mean frequency f [5] in a selected frequency band (0.2-1Hz or 0.34-1Hz, depending on the analysis bandwidth)

$$UNFM[n] = \sum_{f_{min}}^{f_{max}} f \cdot \rho[n, f] \quad (4)$$

- **RMS:** consists in the calculation of the root mean square (RMS) value over a moving window of the EHG signal as follows:

$$RMS[n] = \left[\frac{\sum_{m=-M/2}^{+M/2} x[m+n]^2 \cdot r[m]}{\sum_{m=-M/2}^{+M/2} \omega[m]} \right]^{\frac{1}{2}} \quad (5)$$

where $r[m]$ is a rectangular window and M is the corresponding length of the rectangular window.

As mechanical activity is a direct consequence of electrical activity, the IUP is always delayed to respect of the electrical signal. This delay is corrected using the cross correlation function (CCF). The maximum value of the CCF gives us the time lag that must be adjusted. Finally, two approaches based on linear regression were performed to fit each EHG parameter sequence to IUP record. The first model corresponds to a linear fitting of the EHG parameter sequence of each patient to estimate the individual IUP record (individual model). The second model consists of a global fitting by previously concatenating IUP records of all patients to obtain a global estimation (global model). For each estimation, the root means square error (RMSe) was computed to assess the goodness of fit.

$$RMSe = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (IUP_i - \widehat{IUP}_i)^2}{N}} \quad (6)$$

Where IUP is the IUP recorded, \widehat{IUP} is the IUP estimated from the EHG parameter and N is the number of samples of both IUP and \widehat{IUP} .

3. Results

Figure 2 shows the simultaneously recorded EHG and IUP signals. The IUP estimation using the three methods is from both individual and global model using the bandwidth

between 0.2 and 1 Hz and a window length of 30 s. depicted in figure 3. It can be seen that all the three methods reproduce all contractions recorded in the IUP, although a greater variability in contractions intensity can be observed for UNFM method. Moreover, Teager and RMS-based IUP estimations do not differ substantially between individual and global model. While UNFM-based IUP estimation shows a greater difference between both approaches.

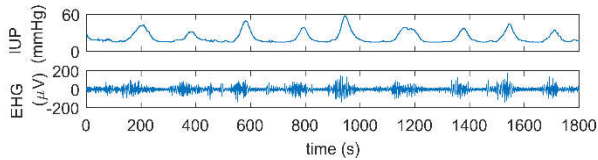


Figure 2. Simultaneous IUP and bipolar EHG (Bip3) recordings.

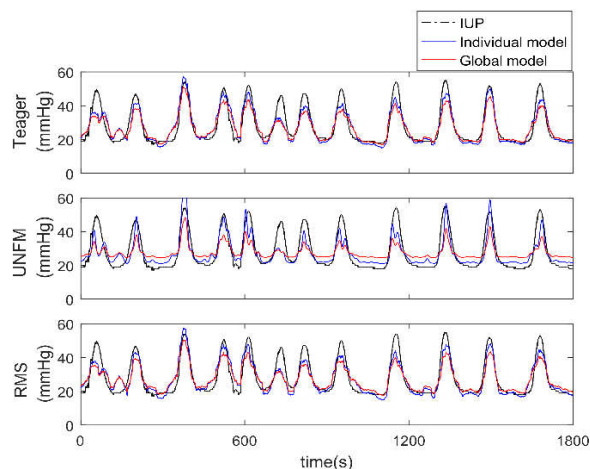


Figure 3. IUP and IUP estimated from the 3 methods calculated on bipolar record Bip3 using the bandwidth between 0.2 and 1 Hz and a window length of 30 s

Table 1 shows the mean and standard deviation of RMSe values for each estimation method, for each window length and for each analysis bandwidth for the individual model. Slightly lower values of RMSe are obtained in the bandwidth [0.2-1Hz] for all the proposed methods and window lengths. It can also be observed that the longer the window size the larger the error for RMS and Teager methods; whereas for UNFM 45s is found to be the optimal window. Comparing the best values for each EHG parameter, Teager-based and RMS-based provided very similar values (8.78 ± 2.14 mmHg and 8.79 ± 2.05 mmHg, respectively) and about 1mmHg better than UNFM (9.77 ± 2.48 mmHg).

Table 2 shows the mean and standard deviation RMSe values for the global model. Slightly higher error values were obtained for all estimations in the global models than those of individual models. In contrast to individual model, in most of the cases better values were obtained in the bandwidth [0.34-1Hz]. Regarding the window length, as in individual model, for RMS and Teager estimation methods the longer the window size the larger the error in most cases (with no remarkable difference between 15s and 30s). For the UNFM method, again the optimal window

size is 45 s and RMSe values are higher than those obtained with the RMS and Teager methods.

Window length (s)	BW (Hz)	Teager	UNFM	RMS
15	0.2-1	8.78 ± 2.14	10.98 ± 2.24	8.79 ± 2.05
	0.34-1	8.94 ± 2.34	11.39 ± 2.41	9.04 ± 2.32
30	0.2-1	8.94 ± 2.56	10.21 ± 2.39	8.99 ± 2.53
	0.34-1	8.94 ± 2.54	10.58 ± 2.43	9.06 ± 2.58
45	0.2-1	9.87 ± 2.74	9.77 ± 2.48	9.92 ± 2.74
	0.34-1	9.89 ± 2.73	10.15 ± 2.48	10.02 ± 2.77
60	0.2-1	12.01 ± 3.86	10.86 ± 3.54	12.06 ± 3.83
	0.34-1	12.22 ± 3.76	11.40 ± 3.33	12.33 ± 3.72

Table 1. RMSe values for each method of IUP estimation for individual model with different window length and analysis bandwidth.

Window length (s)	BW (Hz)	Teager	UNFM	RMS
15	0.2-1	9.57 ± 2.29	12.02 ± 2.38	9.93 ± 2.34
	0.34-1	9.58 ± 2.39	12.09 ± 2.38	9.74 ± 2.42
30	0.2-1	9.65 ± 2.64	11.41 ± 2.48	10.13 ± 2.76
	0.34-1	9.52 ± 2.57	11.36 ± 2.36	9.71 ± 2.67
45	0.2-1	10.45 ± 2.76	11.06 ± 2.54	10.93 ± 2.92
	0.34-1	10.34 ± 2.73	10.94 ± 2.40	10.55 ± 2.81
60	0.2-1	12.56 ± 3.85	12.18 ± 3.43	12.93 ± 3.95
	0.34-1	12.66 ± 3.73	12.24 ± 3.15	12.82 ± 3.75

Table 2. RMSe values for each method of IUP estimation for global model with different window length and analysis bandwidth.

4. Discussion

Monitoring uterine contractions provides useful information during pregnancy and labor. Intrauterine pressure is the only reliable measure of uterine dynamics, from which not only the duration and frequency of contraction but also the tone and intensity of the contraction can be obtained. In the present study we assessed 3 previously reported methods for IUP estimation based on surface EHG parameters using different bandwidth and window length, being the best result obtained using Teager energy method: 9.52 ± 2.57 mmHg (BW:0.34-1Hz and window length: 30 s) in the global model and 8.78 ± 2.14 mmHg (BW:0.2-1Hz and window length: 15 s) in the individual model. This result was considerably better than that obtained by Rooijackers et al with this parameter (13.9 ± 2.8 mmHg) using an scaling factor for each patient as the mean value of the optimized estimates for all the other patients [5]. Respect to the unnormalized first statistical moment of the spectrogram, the best result was achieved when using a window length of 45 s and the bandwidth 0.34-1Hz (10.94 ± 2.40 mmHg). This estimation error is also smaller than that obtained by Rabotti et al (13.47 ± 6.67 mmHg) and Rooijackers et al.

(19.4±9.6 mmHg). Jezewski et al proposed [7] a RMS-based IUP estimation algorithm, and Rooijackers et al [5] computed and reported RMSe values of 15.7±3.2 mmHg. Our RMS estimation of both global and individual model exhibit lower values than 10 mmHg for both analysis bandwidths when using windows length of 15 and 30 seconds. Even databases are different, all this indicate that our result shows a substantial improvement to those of the literature [5–7]. This improvement could be explained due the different bandwidth considered and electrode position which can result into a better SNR. In the literature the EHG signal is band pass filtered between 0.3-0.8Hz for computation of Teager and UNFM using a window length of 30s and 70s respectively, while for RMS, the EHG signal is band pass filtered in the range [0.05-5 Hz] with a window length of 60 s. 98% of uterine electrical activity occurred in frequencies less than 1 Hz [3], therefore we considered the two bandwidths [0.2-1Hz] and [0.34-1 Hz] which appear to be more appropriate as we obtain lower RMSe values. Based on clinical usefulness, results of global model have more generalization impact, therefore we conclude that the best analysis bandwidth is 0.34-1Hz and the optimal window length is 30s. The improvement is also enhanced due to a better electrode configuration that allow to capture a greater area of uterine activity. Moreover, we do not remove IUP basal tone, as literature does, as it supposes loss of information.

Although our results show an improvement to those of literature, is not exempt of limitations. First, a large inter-patient variability in the amplitude of the EHG signal has been observed without observing large differences in the intensity of contractions in the IUP record. Differences in body constitution, or obstetrical factors may be responsible of this variability. Second we use a linear model to reproduce a non-linear physiological process. Lastly, this and all reported studies are bipolar single-channel IUP estimations. That is, only the local information sensed with two electrodes is considered, whereas intrauterine pressure is a consequence of a global phenomenon of the entire uterus. Therefore, to reduce estimation error, further approaches can be explored such as introducing the obstetrical information of patients, performing multichannel and/or multivariable linear and nonlinear models and compensating the EHG's inter-patient differences.

5. Conclusion

In the present study, linear regression models were used to perform IUP estimations from EHG signal using two analysis bandwidth and different windows lengths. Results of this work point out that the best estimation method was achieved for Teager in the bandwidth 0.34-1Hz and the optimal window length was 30 seconds achieving an RMSe value of 9.06 ±2.58. Results outperformed those reported in the literature even for a global model. The proposed EHG-based technique could be suitable to monitor uterine dynamics in clinical conditions.

Acknowledgement

Research supported by the Ministry of Economy and Competitiveness and the European Regional Development Fund (DPI2015-68397-R)

References

- [1] Euliano TY, Nguyen MT, Darmanjian S, McGorray SP, Euliano N, Onkala A, et al. Monitoring uterine activity during labor: a comparison of 3 methods. *Am J Obstet Gynecol* 2013;208:66.e1-66.e6. doi:10.1016/j.ajog.2012.10.873.
- [2] Benalcazar-Parra C, Montfort-Orti R, Ye-Lin Y, Alberola-Rubio J, Perales Marin A, Mas-Cabo J, et al. Characterization of Uterine Response to Misoprostol based on Electrohysterogram. *Proc. 10th Int. Jt. Conf. Biomed. Eng. Syst. Technol., SCITEPRESS - Science and Technology Publications*; 2017, p. 64–9. doi:10.5220/0006146700640069.
- [3] Fergus P, Cheung P, Hussain A, Al-Jumeily D, Dobbins C, Iram S. Prediction of Preterm Deliveries from EHG Signals Using Machine Learning. *PLoS One* 2013;8. doi:10.1371/journal.pone.0077154.
- [4] Alberola-Rubio J, Garcia-Casado J, Prats-Boluda G, Ye-Lin Y, Desantes D, Valero J, et al. Prediction of labor onset type: Spontaneous vs induced; role of electrohysterography? *Comput Methods Programs Biomed* 2017;144:127–33. doi:10.1016/j.cmpb.2017.03.018.
- [5] Rooijackers M, Rabotti C, Guid Oei S, Aarts RM, Mischi M. Low-complexity intrauterine pressure estimation using the Teager energy operator on electrohysterographic recordings. *Physiol Meas Phys Eng Med Physiol Meas Physiol Meas* 2014;35:1215–28. doi:10.1088/0967-3334/35/7/1215.
- [6] Rabotti C, Mischi M, van Laar JOEH, Oei GS, Bergmans JWM, Andrieux J C, Feix M R, Mourgues G, Bertrand P IB and NVT, et al. Estimation of internal uterine pressure by joint amplitude and frequency analysis of electrohysterographic signals. *Physiol Meas* 2008;29:829–41. doi:10.1088/0967-3334/29/7/011.
- [7] Jezewski J, Horoba K, Matonia A, Wrobel J. Quantitative analysis of contraction patterns in electrical activity signal of pregnant uterus as an alternative to mechanical approach. *Physiol Meas* 2005;26:753–67. doi:10.1088/0967-3334/26/5/014.
- [8] Prats-Boluda G, Ye-Lin Y, Bueno Barrachina JM, Senent E, Rodriguez de Sanabria R, Garcia-Casado J. Development of a portable wireless system for bipolar concentric ECG recording. *Meas Sci Technol* 2015;26:75102. doi:10.1088/0957-0233/26/7/075102.
- [9] Kaiser JF. On a simple algorithm to calculate the “energy” of a signal. *Int. Conf. Acoust. Speech, Signal Process., IEEE*; 1990, p. 381–4. doi:10.1109/ICASSP.1990.115702.

Caracterización de la complejidad de la señal electrohisterográfica en mujeres con amenaza de parto prematuro mediante Lempel-Ziv

J. Mas-Cabo¹, Y. Ye-Lin¹, C. Benalcazar-Parra¹, J. Alberola-Rubio¹, A. Perales Marin², J. Garcia-Casado¹, G. Prats-Boluda¹

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (Ci2B), Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain, {jmas, yiye, carbepar, jgarciac, gprats}@ci2b.upv.es

² Servicio de Obstetricia, Hospital Universitari i Politècnic La Fe, Valencia, Spain, perales_alf@gva.es

Resumen

El electrohisterograma (EHG) se ha caracterizado mediante el cómputo de diferentes parámetros temporales, espectrales y no lineales. Dado que con los dos primeros tipos no se ha conseguido una gran precisión en la predicción del parto prematuro, actualmente muchos trabajos se centran en la exploración de estos últimos. El objetivo del presente trabajo es caracterizar la señal de EHG mediante el índice Lempel-Ziv en pacientes con amenaza de parto prematuro registradas en condición clínica habitual, esto implica que la mayoría de registros se encontraban bajo efecto del fármaco Atosiban. Los resultados muestran que este parámetro posee una mayor robustez que otros como la entropía muestral cuando se trata de diferenciar entre mujeres que dieron a luz en menos de siete días frente a aquellas que lo hicieron en más de siete, con p-valor de 0.007 y 0.088 respectivamente. Estos resultados suponen un avance en el acercamiento del uso de herramientas basadas en análisis de EHG para la predicción del parto prematuro.

1. Introducción

En obstetricia se entiende por parto prematuro aquellos nacimientos producidos con anterioridad a la semana 37 de gestación. La tasa de prematuridad presenta una tendencia creciente que actualmente se sitúa alrededor del 12% en países desarrollados sobre el total de nacimientos [1]. Además la prematuridad no destaca únicamente por ser una de las principales causas de muerte en neonatos debido a la inmadurez de los sistemas orgánicos, sino que aquellos niños que sobreviven sufren diferentes afecciones como trastornos cognitivos, respiratorios o cardiovasculares [2]. Por todas estas razones el parto prematuro supone además un mayor coste económico respecto a los nacimientos a término, concretamente algunos estudios sitúan el coste del parto prematuro en hasta cinco veces superior respecto a un nacimiento a término [2]. A todas las complicaciones anteriores hay que añadir la carencia de herramientas diagnósticas específicas capaces de determinar cuándo un embarazo finalizará de forma prematura o no. Tradicionalmente si existen factores de riesgo o una paciente acude al hospital con sintomatología de parto prematuro, junto con la medida de la longitud de cérvix, la técnica comúnmente empleada para evaluar el riesgo de parto prematuro es la tocodinamometría (TOCO) [3]. Dicha técnica consiste en el registro de cambios de presión sobre la superficie abdominal debidos a las contracciones uterinas. Sin embargo, esta técnica sólo permite obtener el

ritmo de aparición de las contracciones, pero no diferenciar las contracciones efectivas (asociadas a un parto próximo) de las no-efectivas, por lo que su utilidad para la predicción de parto prematuro es muy limitada [4]. Una técnica alternativa a la tocodinamometría para monitorizar la dinámica uterina y evaluar el riesgo de parto prematuro es la electrohisterografía. Esta técnica consiste en el registro de la actividad eléctrica de las células del miometrio asociada a la contracción uterina en la superficie abdominal (electrohisterograma, EHG). El EHG proporciona además información relevante sobre la eficiencia de las contracciones [3,5]. Numerosos estudios han empleado diferentes técnicas de análisis sobre señales de EHG para evaluar el riesgo de prematuridad [6–8], centrándose tradicionalmente en la obtención de características espectrales de la señal, como la frecuencia media/mediana, frecuencias dominantes, energía por subbanda normalizada etc. Sin embargo, con estos parámetros no han conseguido una gran precisión en la predicción del parto prematuro. Más recientemente se han explorado parámetros centrados en el análisis no lineal de la señal EHG que pretende evaluar la complejidad y orden la misma, tales como la entropía, la reversibilidad en el tiempo o el índice de Lyapunov.

El análisis de complejidad Lempel-Ziv es otro método de análisis no lineal que evalúa la complejidad de la señal en base a la repetitividad de diferentes patrones a lo largo de la serie temporal [9]. Para ello, las señales se transforman en una secuencia de caracteres simbólicos, tomando diferentes umbrales. Generalmente en su vertiente más extendida se toma como umbral el valor mediana de la amplitud de la señal dando lugar a una señal binaria [9]. La secuencia resultante se recorre en busca de diferentes patrones o palabras, por cada nuevo patrón se incrementa en una unidad el contador que evalúa la complejidad.

En este trabajo se propone caracterizar la señal EHG, registrada en mujeres con amenaza de parto prematuro en condiciones de clínica habitual, mediante el cómputo de la complejidad Lempel-Ziv y comparar además su evolución con el tiempo al parto y su capacidad para discriminar entre registros con diferente tiempo al parto, respecto del parámetro entropía muestral. Se valorará especialmente la capacidad de separar aquellas pacientes que dieron a luz en menos de siete días de aquellas que lo hicieron en más.

Edad (años)	31.3 ± 5.4
Edad Gest. (semanas)	31.3 ± 3.3
Gestaciones	1.61 ± 0.77
Paridad	0.28 ± 0.45
Abortos	0.44 ± 0.45
Long. Cervical (mm)	17.6 ± 16.0

Tabla 1. Información obstétrica de las 54 pacientes estudiadas.

2. Material y Métodos

2.1. Adquisición de Datos

Para la realización del estudio se han incluido un total de 88 registros procedentes de 54 pacientes con edades gestacionales comprendidas entre 25 y 36 semanas que ingresaron por riesgo de parto prematuro en el Hospital Universitari i Politècnic La Fe de Valencia. El estudio fue aprobado por el comité de ética de dicho hospital. Todas las pacientes incluidas fueron informadas antes de su participación en el estudio, sobre las condiciones de registro, siendo necesario su consentimiento para su inclusión. En la Tabla 1 se muestra un resumen de información obstétrica recopilada en el momento de registro; además se les realiza un seguimiento hasta el momento del parto. Una vez se dispone de la información relativa al tipo de parto, si ha sido prematuro o a término, se excluyen del estudio aquellas pacientes que tuvieron un parto prematuro pero no fue iniciado de forma espontánea, es decir, requirieron de inducción mediante fármacos o cesárea. Asimismo, puesto que todas las pacientes ingresaron por amenaza de parto prematuro la mayoría de los registros fueron tomados bajo efecto del fármaco tocolítico Atosiban.

Por otra parte con el fin de estudiar la evolución a lo largo del embarazo y la capacidad discriminatoria de los parámetros de EHG para diferenciar aquellas pacientes que dieron a luz en menos de siete días frente a las que no, se ha clasificado a las pacientes en función del tiempo transcurrido desde el momento del registro hasta el momento del parto (tiempo al parto, TAP). Concretamente se ha optado por crear 5 grupos: G1 (TAP ≤ 7 días); G2 (TAP ∈]7,14] días); G3 (TAP ∈]14,30] días); G4 (TAP > 30 días); G5 (TAP > 7 días). A continuación se indica el número de casos por cada grupo: G1 (12), G2 (11), G3 (18) y G4 (41).

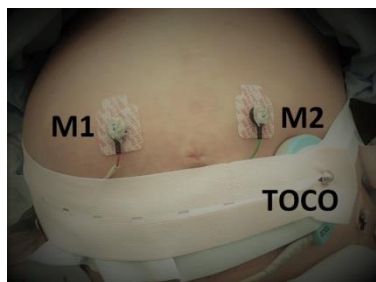


Figura 1. Fotografía de la colocación de los electrodos y el TOCO según el protocolo de registro.

Para cada sesión de registro, se prepara cuidadosamente la piel donde se colocarán los electrodos empleando para ello una pasta abrasiva (Nuprep) con el fin de reducir la impedancia electrodo-piel. Tras ello se colocan dos electrodos desechables de Ag/AgCl (3M red dot 2660) en la zona supraumbilical, con una separación de 8 cm como se indica en la *Figura 1*. También se coloca en cada una de las caderas un electrodo desechable de Ag/AgCl (3M red dot 2660) que sirven de electrodo de masa y electrodo de referencia. La adquisición de las señales se lleva a cabo mediante dos módulos diseñados ad-hoc por el grupo de investigación [10]. Dichos módulos proporcionan una ganancia de 2059 V/V en el ancho de banda pasante entre 0.1 y 150 Hz. Asimismo las señales de EHG son digitalizadas mediante un CAD con 24 bits de resolución y muestreadas a 500 Hz para posteriormente diezmarlas a una frecuencia final de 20 Hz.

A partir de estas señales monopolares M1 y M2, se obtiene una señal bipolar sobre la que se realizará el estudio (Bip = M1 - M2). Adicionalmente para cada sesión de registro se adquiere de forma simultánea el registro de TOCO, mediante la colocación de un tocodinamómetro en el abdomen (ver la *Figura 1*), cuya señal de salida es acondicionada mediante Corometric 170 de GE Medical Systems y transmitida al PC a través del puerto serie, siendo la frecuencia de muestreo 4 Hz.

2.2. Análisis de Datos

La mayoría de estudios sobre caracterización de señales electrohisterográficas se centran en el análisis de los segmentos de señal con EHG-burst asociada a las contracciones uterinas, desechando el tono basal asociado al estado de reposo del útero [8,11]. Estos estudios requieren de una segmentación generalmente manual de las contracciones. Este proceso requiere de una gran cantidad de tiempo y depende en gran medida del experto que realiza la segmentación, limitando la utilidad clínica de este tipo de técnicas [6]. Por el contrario, algunos autores han propuesto el análisis del registro completo de la señal electrohisterográfica como una alternativa menos laboriosa, puesto que únicamente requiere de la eliminación manual de tramos artefactados. En este estudio se ha propuesto realizar el análisis del registro completo que facilita el acercamiento del EHG a la práctica clínica. Cabe señalar que en el presente trabajo se han descartado de cada registro aquellos tramos que presentan una elevada presencia de artefactos o de la señal de respiración de la paciente.

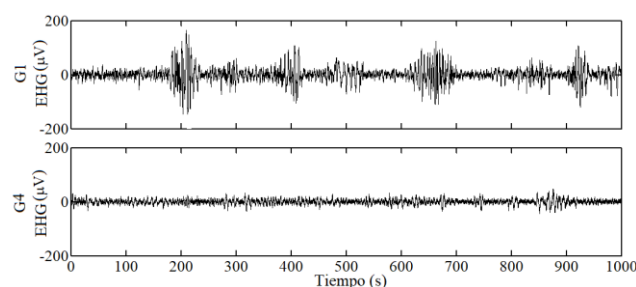


Figura 2. Registros de EHG correspondientes a pacientes con diferente tiempo al parto desde el momento del registro.

Posteriormente se han computado la entropía muestral [6] y el índice Lempel-Ziv [9] en el ancho de banda 0.1-4 Hz en ventanas móviles de 120 segundos con un solapamiento del 50%. A continuación se calcula el valor promedio de las distintas ventanas de análisis de cada registro.

Adicionalmente se ha estudiado la capacidad del índice Lempel-Ziv y la entropía muestral para discriminar entre los diferentes grupos establecidos en función del tiempo al parto, incluyendo la comparativa G1 vs G5, (parto en menos de 7 días vs parto en más de 7 días) empleando el test de comparación de medianas de Wilcoxon ($\alpha = 0.05$).

3. Resultados

En la Figura 3 se muestran dos registros de 1000 s dónde la traza superior corresponde a una paciente perteneciente al grupo G1 (TAP < 7 días), y la traza inferior pertenece a una paciente del grupo G4 (TAP > 30 días). Se pueden apreciar mayores valores de amplitud en el registro de la traza superior (más cercano al parto) frente al de registro más lejano al momento del parto. Sin embargo, no existen cambios únicamente en la amplitud de las señales y en la frecuencia de aparición de las contracciones, ya que algunos estudios han reportado una mayor organización y coordinación en las señales electrohisterográficas conforme se acerca el parto [5]. En la Tabla 2 se muestran valores obtenidos para la complejidad Lempel-Ziv y la entropía muestral en los diferentes grupos según el tiempo al parto. Se puede observar como para ambos parámetros los valores disminuyen al acercarse el momento del parto.

	Lempel-Ziv	Entropía Muestral
G1 (TAP < 7 días)	0.36 ± 0.05	2.17 ± 0.34
G2 (TAP [7-14] días)	0.38 ± 0.03	2.35 ± 0.20
G3 (TAP [14-30] días)	0.39 ± 0.07	2.14 ± 0.37
G4 (TAP > 30 días)	0.44 ± 0.07	2.32 ± 0.17
G5 (TAP > 7 días)	0.42 ± 0.07	2.28 ± 0.25

Tabla 2. Media y desviación típica de la entropía muestral e índice Lempel-Ziv de los distintos grupos.

	p-valor Lempel-Ziv	p-valor Entropía Muestral
G1 vs G2	0.1050	0.0321
G1 vs G3	0.0480	0.2153
G1 vs G4	0.0004	0.0673
G2 vs G3	0.2101	0.0362
G2 vs G4	0.0021	0.0612
G3 vs G4	0.0312	0.1022
G1 vs G5	0.0074	0.0882

Tabla 3. P-Valores obtenidos por los parámetros Lempel-Ziv y entropía muestral en las comparativas entre los diferentes grupos (G1: TAP <7 días; G2: TAP [7-14] días; G3: TAP [14-30] días; G4: TAP >30 días y G5: TAP >7 días).

Por otra parte, en la Tabla 3 se han incluido los p-valores resultantes de los test estadísticos realizados entre los diferentes grupos para ambos parámetros calculados. Se puede apreciar que la complejidad Lempel-Ziv presenta diferencias estadísticamente significativas en las comparativas entre todos los grupos excepto entre G1 vs G3 (parto <7 días vs parto [14-30] días). Las diferencias obtenidas por la complejidad Lempel-Ziv son más notables cuando se enfrentan grupos con mayor diferencia de tiempo al parto (G1 vs G4), sin embargo, estas diferencias se mantienen al agrupar todos los grupos con tiempo al parto mayor de siete días (G1 vs G5). Por su parte, la entropía muestral sólo es capaz de obtener diferencias significativas en dos de las comparativas.

4. Discusión

En este trabajo se ha caracterizado la evolución de la señal electrohisterográfica a lo largo de la gestación en pacientes con amenaza de parto prematuro mediante la complejidad Lempel-Ziv y se ha evaluado la capacidad discriminativa de dicho parámetro entre los diferentes grupos en función del tiempo al parto.

Tanto la complejidad Lempel-Ziv como la entropía muestral muestran una tendencia decreciente conforme avanza la gestación y se acerca el parto. Este resultado coincide con otros autores que han utilizado la entropía muestral para la caracterización de la señal EHG [2,12]. Respecto a la complejidad Lempel-Ziv, Lemancewicz et al encontraron diferencias significativas en este parámetro al comparar los valores de pacientes que dieron a luz en más de siete días frente a aquellas que lo hicieron en menos [12]. Sin embargo, en dicho trabajo se reportan menores valores de este parámetro a medida que aumenta el tiempo al parto, siendo esta tendencia contraria a la obtenida en el presente trabajo. De acuerdo con la electrofisiología, la actividad eléctrica uterina se vuelve más organizada y sincronizada conforme avanza la gestación [5]. Por tanto, cabría esperar una tendencia decreciente en los valores de la complejidad Lempel-Ziv conforme progresa el embarazo tal como indica nuestro resultado, dado que menores valores de este parámetro implican una señal más regular y determinista. La discrepancia de nuestro resultado con el trabajo de Lemancewicz puede ser debido a distintos factores, como el diferente ancho de banda utilizado, el tamaño de ventana y frecuencia muestreo empleado (8192 muestras con una frecuencia de muestreo de 200 Hz) así como otras razones relacionadas con los criterios de inclusión/exclusión de señales artefactadas o que presentan interferencia respiratoria.

Sin embargo, a pesar de que los resultados muestran una tendencia análoga para la entropía muestral y la complejidad Lempel-Ziv, esta última presenta una mayor capacidad discriminativa entre los distintos grupos que la entropía muestral. En concreto, para diferenciar las pacientes que dieron luz en menos de 7 días y las que no, sólo se ha obtenido diferencia estadísticamente significativa en la complejidad Lempel-Ziv y no en la entropía muestral. Los resultados obtenidos en la comparativa entre grupos evidencian que la capacidad discriminativa de la entropía muestral es menor que la de

la complejidad Lempel-Ziv en condiciones de clínica habitual. Esto demuestra que la complejidad evaluada mediante Lempel-Ziv posee una mayor robustez para caracterizar la naturaleza no lineal de la señal de EHG incluso bajo efecto del fármaco Atosiban, puesto que los tocolíticos comúnmente administrados para frenar los síntomas de parto prematuro ya han demostrado su capacidad para afectar al contenido de la señal de EHG [13]. Este resultado sugiere que la complejidad Lempel-ziv podría aportar información relevante y robusta para la predicción del parto prematuro en condiciones clínicas habituales con un horizonte temporal de hasta 7 días. La combinación de este índice con otros parámetros temporales, espectrales y bivariantes podría conducir al diseño de un sistema experto para la predicción del parto prematuro en condiciones clínicas.

5. Conclusión

Aunque la complejidad Lempel-Ziv presenta tendencias similares a la entropía muestral en registros de EHG realizados en mujeres con amenaza de parto prematuro, ha demostrado una prometedora capacidad de discriminación entre diferentes grupos establecidos en función del tiempo al parto. Es especialmente destacable la capacidad para separar aquellas pacientes que alumbraron en menos de siete días de aquellas que lo hicieron en más. Esta capacidad y robustez frente al uso del tocolítico Atosiban facilitaría el desarrollo de sistemas de ayuda al diagnóstico en aplicaciones de parto prematuro, acercando el uso de las técnicas de EHG a la práctica clínica diaria.

Referencias

- [1] A.C. of O. and Gynecologists, ACOG practice bulletin no. 127: Management of preterm labor., *Obstet. Gynecol.* 119 (2012) 1308–1317.
- [2] S. Petrou, The economic consequences of preterm birth during the first 10 years of life, *BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol.* 112 (2005) 10–15.
- [3] E. Hadar, T. Biron-Shental, O. Gavish, O. Raban, Y. Yogevev, A comparison between electrical uterine monitor, tocodynamometer and intra uterine pressure catheter for uterine activity in labor, *J. Matern. Neonatal Med.* 28 (2015) 1367–1374.
- [4] M. Hassan, J. Terrien, C. Muszynski, A. Alexandersson, C. Marque, B. Karlsson, Better pregnancy monitoring using nonlinear correlation analysis of external uterine electromyography, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 60 (2013) 1160–1166.
- [5] R.E. Garfield, W.L. Maner, Physiology and electrical activity of uterine contractions, *Semin. Cell Dev. Biol.* 18 (2007) 289–295.
- [6] G. Fele-Žorž, G. Kavšek, Ž. Novak-Antolič, F. Jager, A comparison of various linear and non-linear signal processing techniques to separate uterine EMG records of term and pre-term delivery groups, *Med. Biol. Eng. Comput.* 46 (2008) 911–922.
- [7] H. Maul, W.L. Maner, G. Olson, G.R. Saade, R.E. Garfield, Non-invasive transabdominal uterine electromyography correlates with the strength of intrauterine pressure and is predictive of labor and delivery., *J. Matern. Neonatal Med.* 15 (2004) 297–301.
- [8] D. Schlembach, W.L. Maner, R.E. Garfield, H. Maul, Monitoring the progress of pregnancy and labor using electromyography, *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 144 (2009) 2–8.
- [9] M. Aboy, R. Hornero, D. Abásolo, D. Álvarez, Interpretation of the Lempel-Ziv complexity measure in the context of biomedical signal analysis, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 53 (2006) 2282–2288.
- [10] Y. Ye-Lin, J.M. Bueno-Barrachina, G. Prats-boluda, R. Rodriguez de Sanabria, J. Garcia-Casado, Wireless sensor node for non-invasive high precision electrocardiographic signal acquisition based on a multi-ring electrode, *Measurement.* 97 (2017) 195–202.
- [11] W.L. Maner, R.E. Garfield, H. Maul, G. Olson, G. Saade, Predicting Term and Preterm Delivery With Transabdominal Uterine Electromyography, *Obstet. Gynecol.* 101 (2003) 1254–1260.
- [12] A. Lemancewicz, M. Borowska, P. Kuć, E. Jasińska, P. Laudański, T. Laudański, E. Oczeretko, Early diagnosis of threatened premature labor by electrohysterographic recordings - The use of digital signal processing, *Biocybern. Biomed. Eng.* 36 (2016) 302–307.
- [13] M.P.G.C. Vinken, C. Rabotti, M. Mischi, J.O.E.H. van Laar, S.G. Oei, Nifedipine-induced changes in the electrohysterogram of preterm contractions: feasibility in clinical practice., *Obstet. Gynecol. Int.* 2010 (2010) 325635.

Imagen Biomédica III

Miércoles, 29 de Noviembre

Solución tecnológica para el cálculo automático de la escala de Boston sobre imágenes colonoscópicas

A. Sánchez González¹, R. Morentin Martínez¹, M.B. García-Zapirain Soto¹, Inés Gil², Luis Bujanda², Manuel Zaballa³, Ignacio Casado³, Ángel José Calderón³, Ana Belén Díaz³, Aitor Orive³, Maite Escalante³, Fidencio Bao³, Iñigo Kamiruaga³, Cristián Castillo¹, Isabel Idígoras³ e Isabel Portillo³.

¹ Deustotech-Life, Universidad de Deusto, Bilbao, España, {cristian.castillo@deusto.es}.

² BioDonostia, Begiristain Doktorea Pasealekua, Donostia, Gipuzkoa, España.

³ BIOEF, Ronda de Azkue, 1 - Torre del BEC (Planta 12), Barakaldo, Bizkaia, España.

Resumen

El cáncer colorrectal es el tumor maligno de mayor incidencia en España si se tiene en cuenta a hombres y mujeres. Según la Asociación Española Contra el Cáncer cada año son diagnosticados entre 28.500 y 33.800 nuevos casos, detectándose alrededor de 20.000 de ellos en hombres y 14.000 en mujeres. Además, se estima que afectará a 1 de cada 20 hombres y a 1 de cada 30 mujeres antes de cumplir los 74 años, lo que supone una gran incidencia para la población. La investigación que se propone trata de aportar una ayuda al diagnóstico médico mediante un software que aborda uno de los aspectos más importantes de la colonoscopia, la evaluación de la calidad de preparación del colon. Para ello se ha utilizado la escala de limpieza del colon de Boston (ELCB), haciendo uso de parámetros objetivos. El software desarrollado ha obtenido unos grandes resultados que se resumen en unos valores de un 0.086 para el test de Wilcoxon, 0.921 para el coeficiente de correlación intraclase, un error absoluto medio de 0.1 puntos y por último una desviación típica del error de 0.29 puntos.

1. Introducción

El cáncer de colon es el tercero más diagnosticado y la tercera causa de muerte en hombres y mujeres en los Estados Unidos. De hecho, “The American Cancer Society” estima que en el año 2014, 136.830 personas fueron diagnosticadas de cáncer de colon y alrededor de 50.000 murieron debido a esta enfermedad [1]. Gran parte de estos cánceres y muertes pueden prevenirse mediante la realización de “screening tests” que permitan su detección precoz y su tratamiento en etapas iniciales.

La colonoscopia es el método de referencia para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades colónicas y por lo tanto la más utilizada en programas de cribado. Se trata de un procedimiento de gran precisión en el diagnóstico y tratamiento, por lo que se ha convertido en una exploración habitual y masivamente solicitada.

La precisión diagnóstica de la colonoscopia depende en gran medida de la calidad de limpieza del intestino. Una preparación inadecuada puede derivar en lesiones patológicas no detectadas por el endoscopista que no son extirpadas, aumentando el riesgo del paciente a desarrollar cáncer. La calidad de la limpieza del intestino se evalúa generalmente por la cantidad de heces sólidas o líquidas en el lumen.

La mala preparación del colon tiene como consecuencia un mayor tiempo de intubación, retirada y sedación,

causando un mayor riesgo para el paciente. Además, existe un impacto inmediato sobre los costes asociados, especialmente cuando el examen tiene que ser repetido [2]. Por lo tanto, la mala preparación es uno de los mayores obstáculos para la eficacia de la colonoscopia.

“The American Society for Gastrointestinal Endoscopy” (ASGE) y el “American College of Gastroenterology” (ACG) han recomendado que la calidad de la preparación intestinal debe ser registrada en el informe final después de cada selección individual [1]. En la actualidad la escala para la evaluación de la calidad de preparación del colon del paciente más utilizada es, la “Escala de limpieza del colon de Boston” (ELCB) [3], aunque por desgracia depende exclusivamente de la valoración del endoscopista, por lo tanto es subjetiva.

A pesar de que la colonoscopia es ampliamente utilizada en la actualidad, no se ha establecido un estándar para la medición de la calidad de éstas, por esto se propone el desarrollo de un método automático de evaluación de la calidad de preparación de la colonoscopia basado en la ELCB, de forma que realice una valoración objetiva basándose en la cantidad y tipología de heces detectadas.

2. Materiales y métodos

2.1. Adquisición de las colonoscopias

La base de datos de colonoscopias ha sido recogida por especialistas de los Servicio de Digestivo de tres hospitales, el Hospital Universitario de Cruces, Hospital de San Eloy y Hospital Universitario Donostia.

Las colonoscopias fueron realizadas como parte de los programas de cribado existentes en los centros de salud participantes, utilizándose colonoscopios de los fabricantes Olympus, Pentax y Fuji, todos ellos con la capacidad de proporcionar grabaciones en alta definición.

El grupo poblacional de la base de datos es homogéneo, se compone de pacientes que han participado en programas de cribado poblacional de cáncer de colon, por lo que los sujetos de estudio no están previamente diagnosticados de ninguna patología.

La base de datos está compuesta por vídeos e imágenes colonoscópicas. Se dispone de 31 vídeos a partir de los cuales los especialistas han obtenido imágenes de las zonas del colon: ciego, ascendente, transversal,

descendente, sigmoide y recto. Además, se dispone de un informe de cada una de las pruebas que especifica la valoración de la ELCB determinada por el especialista.

2.2. Escala de Boston (ELCB)

La ELCB fue desarrollada para limitar la variabilidad interobservador en la clasificación de la calidad de la preparación intestinal, preservando al mismo tiempo la capacidad de distinguir varios grados de limpieza intestinal. Los términos subjetivos tales como "excelente", "bueno", "justo", "pobre" e "insatisfactorio" son reemplazados por un sistema de puntuación de cuatro puntos aplicado a cada una de las tres regiones amplias del colon: colon derecho (el ciego y el colon ascendente), el colon transversal (incluyendo las flexuras hepática y esplénica) y el colon izquierdo (incluyendo el colon descendente, el colon sigmoide y el recto). Los puntos se asignan de la siguiente manera:

- 0: Segmento de colon no preparado con mucosa no vista debido a heces sólidas que no pueden eliminarse.
- 1: Porción de la mucosa del segmento de colon visto, pero otras áreas del segmento de colon no bien visto debido a la tinción, heces residuales y / o líquido opaco.
- 2: Menor cantidad de tinción residual, pequeños fragmentos de heces y / o líquido opaco, pero la mucosa del segmento de colon se ve bien.
- 3: Toda la mucosa del segmento del colon se ve bien sin tinción residual, pequeños fragmentos de heces o líquido opaco. El texto de la escala fue finalizado después de incorporar la retroalimentación de tres colegas experimentados en colonoscopia.

Cada región del colon recibe una "puntuación de segmento" de 0 a 3 y estas puntuaciones de segmento se suman para una puntuación total de ELCB que varía de 0 a 9. Por lo tanto, la puntuación máxima de ELCB para un colon perfectamente limpio sin ningún líquido residual es 9 y la puntuación mínima de ELCB para un colon sin preparar es 0. Si un endoscopista aborta un procedimiento debido a una preparación inadecuada, entonces se asigna a cualquier segmento proximal no visualizado una puntuación de 0.

3. Diseño

3.1. Preprocesado de las imágenes

Debido al dispositivo de captura y el entorno de grabación, las imágenes y vídeos colonoscópicos sufren principalmente dos problemáticas, máscara negra y reflejos especulares. Por este motivo se hace necesario aplicar diferentes técnicas para su eliminación.

Comenzando con la máscara negra, las lentes del sistema de captura de imágenes colonoscópicas, generan un borde negro alrededor de la imagen. En ocasiones es utilizada para mostrar información del paciente o la prueba. Este borde dificulta las labores de desarrollo de algoritmos de

procesado digital de imagen, ya que supone una mayor área a analizar, además de no permitir realizar un cálculo preciso de la ELCB, ya que se compone de píxeles que no se deben tener en cuenta para su cálculo.

Los autores han decidido solventar esta problemática detectando la máscara negra mediante un umbralizado en el canal V del modelo de color HSV, de modo que si $V \leq 0.1$ es perteneciente a la máscara negra. Una vez detectada, estos píxeles no son tenidos en cuenta para el cálculo de la ELCB.

En cuanto a los reflejos especulares son debidos a la reflexión directa de la luz en la cámara, generando zonas muy saturadas en la imagen que dificultan el procesamiento de la imagen. Crean regiones que no es posible determinar si son heces o colon, por lo que es necesaria su eliminación.

La eliminación de los reflejos especulares consta de dos fases: detección y reconstrucción. Su detección se ha realizado mediante el método propuesto por [4], que asume un valor de intensidad mayor para píxeles especulares respecto a los no especulares. La detección de reflejos especulares se realiza mediante la resta de la imagen original y su media. Una vez realizado esto, mediante una umbralización son detectados los reflejos especulares. La ecuación 1 muestra el cálculo para su detección.

$$if (abs(I_{original} - \overline{I_{original}})) \geq 0.5 \text{ is specular reflection} \quad (1)$$

Tras detectar los reflejos especulares, se realiza la reconstrucción. Éste proceso permite corregir una zona deteriorada de una imagen mejorando su calidad

3.2. Detección de las heces

La detección automática de heces es realizada mediante una segmentación de color. Las heces suelen aparecer en tonos amarillentos, marrones o incluso verdosos, en cambio, las paredes del colon son de color rojizo. Para poder realizar una correcta segmentación de las heces se ha propuesto el siguiente método que consta de 4 pasos:

1. Conversión de las imágenes de RGB a HSV: el modelo de color RGB no es recomendado para la segmentación por color debido a su alta correlación entre canales y la dificultad para especificar colores, por estos motivos se realiza la conversión a HSV.
2. Ajuste del canal H: el rango de valores de color del canal H para las imágenes colonoscópicas aparece comprimido, lo que dificulta su umbralizado, por este motivo se realiza un ajuste del canal expandiendo sus valores.
3. Conversión a RGB y equalización de los canales: de esta forma se consigue un mayor contraste en la imagen.
4. Conversión a HSV y umbralización: por último, se realiza una nueva conversión a HSV y se aplican los umbrales definidos por la ecuación 2 en cada uno de los canales:

$$Stool \text{ if } ((0.25 \leq H \leq 0.8) \text{ AND } (0.4 \leq S \leq 1) \text{ AND } (0.3 \leq V \leq 1)) \quad (2)$$

De esta forma se consigue una segmentación de las heces contenidas en las imágenes colonoscópicas, asegurando una buena detección en diferentes condiciones de iluminación para diferentes tipos de heces.

3.3. Clasificación de las heces

La clasificación de diferentes tipos de heces se realiza mediante el color, aunque debido a la iluminación no homogénea y la del entorno de grabación, en determinadas ocasiones no es posible determinar de una manera exacta las regiones de cada tipo de heces únicamente mediante el color, por este motivo se ha decidido utilizar la textura de las imágenes. Para ello se han utilizado los Patrones Binarios Locales (LBP).

La clasificación de los diferentes tipos de heces se ha realizado mediante el método de clasificación no supervisado K-Means. Se ha optado por este método por su sencillez, rapidez y eficacia. En la investigación propuesta se ha decidido proporcionar unas agrupaciones iniciales al algoritmo, ya que un K-Means estándar en cada ejecución genera agrupaciones iniciales aleatorias y auto-ajustadas, permitiendo realizar una clasificación, pero no proporcionando la posibilidad de saber a qué clase pertenece cada clúster. Las agrupaciones iniciales han sido creadas a partir de las imágenes disponibles en la base de datos. Se ha realizado una segmentación manual de fragmentos de los diferentes tipos de heces, generando prototipos que permitan la correcta clasificación. Los vectores de características a partir de los cuales se han generado las agrupaciones iniciales se componen de la información de los canales R, G y B además de 84 coeficientes LBP.

3.4. Cálculo de la escala de Boston

El cálculo de la ELCB se realiza a partir de la evaluación de 6 imágenes obtenidas de los vídeos colonoscópicos. Las imágenes corresponden a las siguientes zonas del colon: derecho (ciego y ascendente), transversal y colon izquierdo (descendente, sigmoide y recto).

La ELCB otorga una puntuación de 0-3 puntos a cada una de las zonas (derecha, transversa e izquierda). Para el cálculo de la valoración de la zona derecha, se evalúan según la ELCB las imágenes del ciego y ascendente, obteniéndose como valoración de la zona la menor de las puntuaciones entre ambas imágenes. En el caso del colon transversal, se evalúa la imagen correspondiente al colon transversal. Por último, para la evaluación del colon izquierdo, son evaluadas las imágenes del colon descendente, sigmoide y recto, obteniéndose como valoración de la zona la menor de las puntuaciones entre las 3 imágenes. De esta forma se obtiene la valoración de 0 a 9 puntos definida por la ELCB.

La asignación de las puntuaciones de las diferentes zonas del colon se realiza mediante un protocolo desarrollado junto a los endoscopistas. Este protocolo se asigna un peso a los diferentes tipos de heces, ya que no afectan de la misma forma a la hora de calcular la ELCB. Las heces sólidas son las más perjudiciales, ya que no pueden ser aspiradas, seguidas de “stain”, que es posible su limpieza mediante el instrumento de endoscopia y líquidas, siendo

estas últimas posible su absorción mediante el dispositivo de endoscopia. Los pesos para los diferentes tipos de heces son 1 para las heces sólidas, 0.85 para las de tipo “stain” y 0.75 para las líquidas.

Por otro lado, se hace necesario definir unos criterios objetivos para asignar las puntuaciones de la ELCB, ya que no especifica la cantidad de heces que debe presentarse para cada puntuación. La máxima valoración se consigue cuando la Valoración ≤ 7 . Para asignar una puntuación de 2 es necesario que $8 \leq \text{Valoración} \leq 30$. Para una puntuación de 1 es requisito que $31 \leq \text{Valoración} \leq 65$. Para finalizar, se asigna una puntuación de 0 cuando la Valoración ≥ 66 . El cálculo del porcentaje de heces presente en las imágenes se realiza mediante la ecuación 3.

$$\text{Valoración} = \text{Stool}_{\text{Solid}} \cdot W_{\text{Solid}} + \text{Stool}_{\text{Stain}} \cdot W_{\text{Stain}} + \text{Stool}_{\text{Liquid}} \cdot W_{\text{Liquid}} \quad (3)$$

Donde $\text{Stool}_{\text{Tipo}}$ representa el porcentaje de heces del tipo definido en la imagen y W_{Tipo} representa el peso acordado para cada tipo de heces.

4. Resultados

Para la extracción de resultados se ha utilizado un conjunto de 200 imágenes colonoscópicas las cuales han sido analizadas independientemente por dos especialistas (E1 y E2) y por el método propuesto (MP) para obtener su puntuación de la ELCB. De estas imágenes se dispone de las valoraciones reales (R) de la ELCB proporcionadas en consenso por un grupo de endoscopistas. Para el presente análisis se utilizarán el test de Wilcoxon, el coeficiente de correlación intraclase, el error medio absoluto y varianza del error.

4.1. Resultados del test de Wilcoxon

Para poder validar los algoritmos desarrollados se hará uso del test de la suma de rangos por parejas de Wilcoxon. De esta forma se podrá determinar si las puntuaciones de la ELCB proporcionadas por los especialistas, el método propuesto y la valoración real pertenecen a una misma distribución y en qué grado. El análisis ha sido realizado, mediante la aplicación del test a las valoraciones de los especialistas (E1 y E2) y el método propuesto (MP) respecto a los valores reales (R). Los resultados del presente análisis pueden verse en la Tabla 1.

Dupla	p
[E1, R]	0
[E2, R]	0.01
[MP, R]	0.086

Tabla 1 Test de la suma de rangos de Wilcoxon

Las valoraciones de la ELCB proporcionadas por el especialista 1 y las reales han obtenido una significancia $p = 0$, por lo que existen diferencias significativas entre ambos grupos. Este resultado confirma la gran disconformidad entre las valoraciones observadas por el especialista y aquellas supuestas como reales.

Las valoraciones de la ELCB proporcionadas por el especialista 2 y las reales han obtenido una significancia $p = 0.01$. De igual forma que en el caso del especialista 1, existen diferencias significativas con la ELCB real

Las valoraciones de la ELCB proporcionadas por el método propuesto y las reales han obtenido una significancia $p = 0.086$. Esto indica que no existen diferencias significativas entre ellas. Como puede verse es el único de los casos en el que se ha conseguido una $p > 0.05$, lo que indica unos mejores resultados.

4.2. Resultados del coeficiente de correlación intraclase

Siguiendo con el protocolo de evaluación establecido, tras comprobar las diferencias significativas entre las valoraciones de la ELCB proporcionadas por los especialistas y el método propuesto, se procede a realizar el análisis del CCI. Al igual que en los anteriores análisis, se pretende valorar el grado de correlación existente entre los grupos. En la *Tabla 2* se muestran los resultados obtenidos por el CCI para las diferentes parejas de grupos disponibles.

Dupla	CCI	Grado
[E1, R]	0,648	Medio
[E2, R]	0.719	Alto
[MP, R]	0.921	Muy alto

Tabla 2 Resultados obtenidos por el coeficiente de correlación intraclase

El CCI obtenido por la pareja formada por el especialista 1 y la realidad es de 0.648. Se trata de una correlación media con los resultados de la ELCB tomados como reales, por lo que existe cierta concordancia entre ambos grupos.

El CCI obtenido por la pareja formada por el especialista 2 y la realidad es de 0.719. Esta correlación es alta por lo que existe una gran armonía entre las valoraciones reales de la ELCB y las proporcionadas por el especialista 2.

El CCI obtenido por la pareja formada por el método propuesto y la realidad es de 0.921. Esta puntuación indica una correlación muy alta, superior a la de los especialistas, demostrando la mayor analogía con las valoraciones reales de la ELCB.

4.3. Resultados del análisis del error

En el presente análisis de las tasas de error se evaluarán las diferencias de ambos especialistas y el método propuesto con la considerada ELCB real.

Dupla	EAM	σ
[E1, R]	0,36 puntos	0,55 puntos
[E2, R]	0.3 puntos	0,54 puntos
[MP, R]	0.1 puntos	0,29 puntos

Tabla 3 Resultados obtenidos por el análisis del error en las puntuaciones de la escala de Boston

Como puede observarse, el método propuesto es quien obtiene un error menor superando a las valoraciones proporcionadas por ambos especialistas, lo que es un resultado satisfactorio y que demuestra la efectividad del software desarrollado.

5. Conclusiones

Tras la realización del estudio propuesto se puede concluir que es posible la detección automática de heces en imágenes colonoscópicas, así como su clasificación mediante la combinación de características de color y textura. Esto posibilita el cálculo automático de la ELCB basada en criterios objetivos permitiendo la estandarización de la evaluación de preparación del colon de los pacientes, tarea que hasta el momento era subjetiva.

Se ha decidido utilizar un clasificador de tipo K-Means debido a la gran variabilidad de las imágenes colonoscópicas, lo que requiere de la extracción de un amplio conjunto de características de la imagen que permitan determinar los diferentes tipos de heces presentes. Por otra parte, se ha conseguido realizar una mejora en el cálculo automático de la ELCB propuesta en la investigación [5] en varios aspectos. El primero de ellos es referente al cálculo de la ELCB basándose en la tipología de las heces, la cual está contemplada en la definición de la ELCB. El segundo de ellos es referente a las puntuaciones otorgadas, ya que la ELCB únicamente otorga una valoración de 3 puntos a zonas del colon exentas de heces, condición que no se cumple en esta investigación.

Agradecimientos

Esta investigación ha sido financiada por el Gobierno Vasco mediante la convocatoria "Ayudas a proyectos de investigación en salud" (nº exp. 2014111159) y el grupo de investigación eVida (IT-905-16).

Referencias

- [1] "Colorectal cancer facts & figures," *American Cancer Society*, 2016-2014.
- [2] R. Enns, "Quality indicators in colonoscopy," *Can. J. Gastroenterol.*, vol. 21, no. 5, p. 277, 2007.
- [3] E. J. Lai, A. H. Calderwood, G. Doros, O. K. Fix, and B. C. Jacobson, "The Boston bowel preparation scale: a valid and reliable instrument for colonoscopy-oriented research," *Gastrointest. Endosc.*, vol. 69, no. 3, pp. 620–625, 2009.
- [4] Jorge Bernal, Javier Sánchez, and Fernando Vilarino. Impact of image preprocessing methods on polyp localization in colonoscopy frames. In *Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2013 35th Annual International Conference of the IEEE*, pages 7350–7354. IEEE, 2013. 49, 52, 54, 140, 146, 316
- [5] J. Muthukudage, J. Oh, W. Tavanapong, J. Wong, and P. C. de Groen, "Color Based Stool Region Detection in Colonoscopy Videos for Quality Measurements," in *Advances in Image and Video Technology*, Y.-S. Ho, Ed. Springer Berlin Heidelberg, 2011, pp. 61–72.

Detección e identificación de vértebras en imágenes de TC empleando técnicas de inteligencia artificial y procesamiento de imagen

A. Jiménez-Pastor¹, A. Alberich-Bayarri^{1,2}, B. Fos-Guarinos¹, F. García-Castro¹, L. Martí-Bonmatí^{1,2}

¹ Quibim, Quantitative Imaging Biomarkers in Medicine, Valencia, España

² GIBI2³⁰, Instituto de Investigación Sanitaria La Fe, Valencia, España

Resumen

Detectar e identificar las vértebras en una imagen radiológica es muy importante a la hora de diagnosticar o realizar el seguimiento de los procesos patológicos de la columna vertebral. Actualmente el radiólogo realiza esta tarea de forma manual, limitando la eficiencia de su flujo de trabajo. Por todo esto, resulta de gran interés diseñar un sistema de ayuda al diagnóstico que automáticamente detecte e identifique todas aquellas vértebras que se encuentren en una imagen, ayudando a una caracterización automática de la estructura ósea vertebral y a una disminución de los tiempos de informado. En el presente trabajo se propone un algoritmo que detecta e identifica automáticamente las vértebras en imágenes de Tomografía Computarizada (TC) independientemente de cuál sea la cobertura anatómica de la imagen o de si se trata de un caso sano o patológico. Para el desarrollo del algoritmo se propone el uso combinado de técnicas de procesamiento de imagen, con técnicas de aprendizaje máquina como las Redes Neuronales Convolucionales. Este algoritmo se ha desarrollado empleando una base de datos de 232 imágenes de TC toraco-abdominopélvicas. Se ha obtenido un error de localización de 7.98 ± 8.73 mm y una tasa de identificación del 90.43%. Este algoritmo proporciona un nuevo método para detectar e identificar automáticamente las vértebras en imágenes de TC de cobertura arbitraria.

1. Introducción

La correcta detección e identificación de las vértebras es muy importante a la hora de diagnosticar o realizar el seguimiento de los pacientes que padecen alguna patología en la columna vertebral, e.g. osteoporosis, escoliosis, cifosis. Actualmente, la identificación de las vértebras en una imagen médica la debe realizar el radiólogo manualmente, siendo una tarea temporalmente costosa y laboriosa para el especialista, ralentizado su flujo de trabajo.

Los principales problemas que se presentan a la hora de realizar un algoritmo que permita detectar e identificar automáticamente las vértebras en una imagen de Tomografía Computarizada (TC) son la arbitrariedad en la cobertura de la imagen, es decir, en cada adquisición la región anatómica visible es diferente. La similitud que presentan las vértebras entre sí es alta. La presencia de implantes metálicos que generen artefactos en la imagen, o la presencia de distintas patologías.

En los últimos años, los algoritmos basados en Inteligencia Artificial (IA) han sido de gran utilidad para abordar este tipo de problemas, permitiendo detectar y segmentar automáticamente estructuras anatómicas en las imágenes radiológicas, acelerando el diagnóstico y ayudando a la integración de métodos cuantitativos para la extracción de biomarcadores de imagen [1-3]. Concretamente, para la detección e identificación automática de cuerpos vertebrales en imágenes de Tomografía Computarizada (TC) se han empleado distintas técnicas de IA, como son los árboles de decisión [4-6] y las redes neuronales [7,8].

En el presente proyecto se plantea una metodología basada en redes neuronales, en concreto, en redes neuronales convolucionales (CNN: *Convolutional Neural Networks*) con el objetivo de detectar en una imagen médica las distintas regiones anatómicas, junto con técnicas de procesamiento de imagen, como son la umbralización o la dilatación, con el objetivo de detectar la posición de la línea central de la columna vertebral.

2. Objetivos

El principal objetivo del presente trabajo es el desarrollo de un algoritmo que permita la detección e identificación automática de vértebras en imágenes de TC independientemente de la cobertura de la misma o de si existen implantes metálicos o algún proceso patológico. Con todo esto se podrán generar flujos que permitan la caracterización automática de la estructura del hueso, y reducir el tiempo de diagnóstico.

3. Materiales

El presente trabajo se desarrolló utilizando Matlab R2016a (Mathworks Inc, Natick, MA, USA) como entorno de programación.

3.1. Bases de datos empleadas

Se realizó una recopilación retrospectiva de 230 estudios de TC comprendiendo distintas coberturas a lo largo del eje z (dirección longitudinal al paciente). Para enriquecer la base de datos, esta debía contener, a su vez, tanto estudios sanos como patológicos.

Todas estas imágenes se etiquetaron manualmente seleccionando el centroide de cada una de las vértebras visibles, almacenando para cada etiqueta $v = \{T1, \dots, T12, L1, \dots, L5, S1\}$ sus coordenadas absolutas, considerando

un total de 18 etiquetas que comprenden las 12 vértebras torácicas, las 5 lumbares y la primera sacra. Para llevar a cabo este etiquetado de la manera más eficiente posible, se diseñó un interfaz de usuario en la que el experto únicamente tenía que seleccionar, empleando las vistas coronal y sagital, la posición de cada uno de los centroides de las vértebras presentes y, automáticamente, estas posiciones quedaban guardadas en un archivo de texto.

Todas estas imágenes se dividieron en 2 grupos: el 80% para entrenar las redes y el 20% para testearlas.

4. Métodos

Para conseguir el objetivo final de la detección e identificación automática de vértebras, se dividió el proceso en distintos pasos.

En primer lugar, se localizó la posición de la línea media de la columna vertebral mediante la detección del canal medular. A continuación, dentro de esta línea media se localizaron los centroides de cada una de las vértebras empleando una serie de clasificadores basados en CNN.

4.1. Detección de la línea media de la columna vertebral

La localización de la columna vertebral se basa en la localización del canal medular y en un posterior desplazamiento.

Para poder detectar el canal medular (Figura 1) se realizó, en primer lugar, una umbralización binaria a 200 UH (*Unidades Hounsfield*) para quedarnos, principalmente, con aquellos píxeles de la imagen que pertenecen a hueso. A continuación, sobre la máscara anterior, se realizó una dilatación empleando un elemento estructural cilíndrico con un radio de 3mm y una altura de 10mm, con lo cual se consiguió potenciar la característica de que el canal medular se encuentra rodeado de hueso cortical. Finalmente, se realizó una operación NOT, se eliminaron todos aquellos píxeles en contacto con los extremos de la imagen y se eliminaron todos aquellos objetos con un área menor de 500mm³.

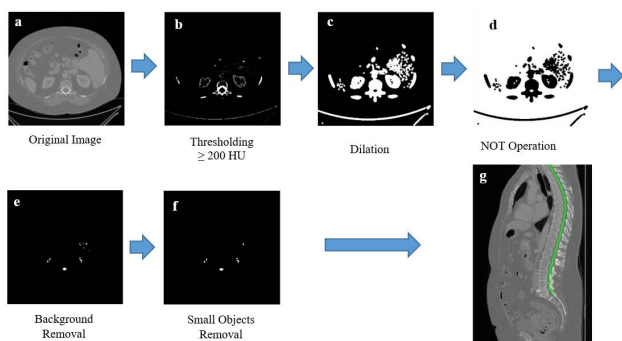


Figura 1. Proceso de detección del canal medular

Una vez detectada la línea central del canal medular, ésta se desplazó en sentido postero-anterior 2cm (distancia aproximada del canal medular a centro de la vértebra) con el objetivo de situar esta línea en el centro de la columna vertebral.

4.2. Detección e identificación de los centroides de las vértebras

Una vez tenemos detectada la columna vertebral, el objetivo es detectar e identificar cada una de las vértebras que la componen. Este proceso (Figura 2) se dividió a su vez en distintos pasos. En primer lugar, se dividió la imagen en distintas regiones: torácica superior, torácica inferior, lumbar y sacra, posteriormente, dentro de cada región, se detectaron aquellos cortes transversales en los que predominaba la presencia de vértebra frente a la presencia de disco intervertebral. A continuación, se calcularon los centroides de cada vértebra. Finalmente, sabiendo a que región pertenecían estos centroides, se realizó la identificación de los mismos.

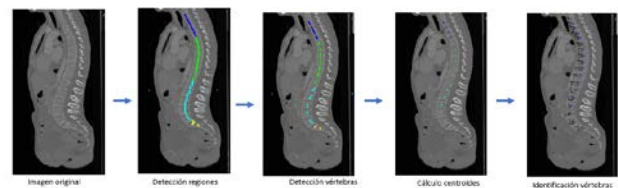


Figura 2. Proceso de detección e identificación de los centroides de cada una de las vértebras presentes en una imagen

Detección regiones

Para dividir una imagen en las distintas regiones (Figura 3) que la componen se realizó la clasificación de cada uno de los cortes transversales que forman la imagen en 5 grupos distintos: 1, si pertenecen a la región torácica superior; 2, si pertenecen a la región torácica inferior; 3, si pertenecen a la región lumbar; 4, si pertenecen a la región sacra; y 0, si no pertenece a ninguna de estas regiones.

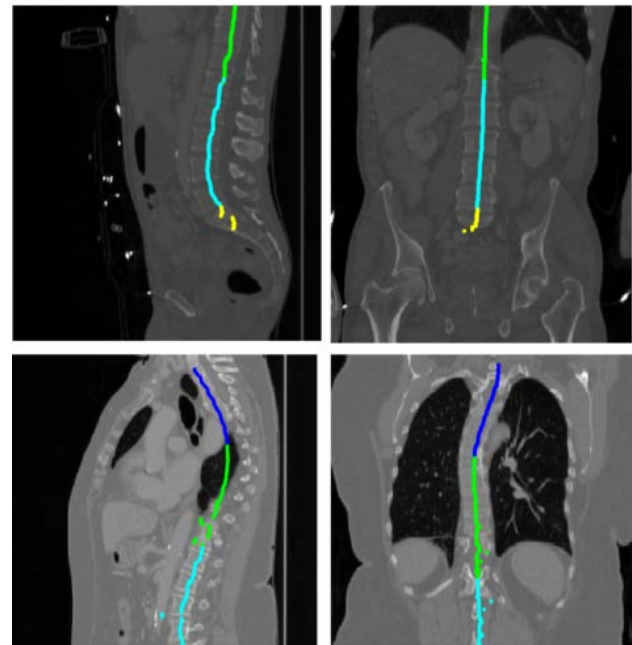


Figura 3. Detección regiones

El clasificador empleado está formado en primer lugar por una CNN pre-entrenada, concretamente *Alexnet* [9], encargada de extraer características de la imagen, seguido de un clasificador SVM (*Support Vector Machine*) binario.

Este se entrenó empleando 1.809 imágenes de cada clase, de cada una de las cuales se extrajeron 4.096 características.

Detección vértebras

Una vez teníamos la imagen dividida por regiones, se emplearon dos clasificadores más, basados también en una CNN pre-entrenada seguida de un clasificador binario SVM. Para aquellos cortes pertenecientes a las regiones torácica superior y torácica inferior se empleó un clasificador que dividiera las imágenes en dos grupos distintos: 1, vértebra; y 0, no vértebra, dependiendo de si en estas predomina la presencia de vértebra o de disco intervertebral respectivamente. Para entrenar este clasificador se emplearon 3.986 imágenes de cada clase.

Para aquellos cortes pertenecientes a las regiones lumbar y sacra se empleó un clasificador con la misma estructura que el anterior. Para entrenar este clasificador se emplearon 1.763 imágenes de cada clase. El resultado obtenido tras aplicar estos clasificadores en una imagen de test se puede observar en la Figura 4

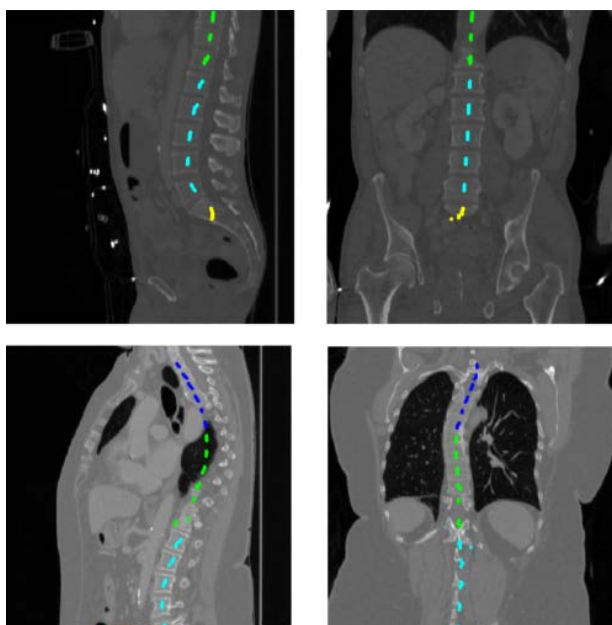


Figura 4. Detección vértebras

Calculo centroides e identificación

Finalmente, para el cálculo de los centroides (Figura 5), se calculó el punto medio de cada segmento detectado como vértebra.

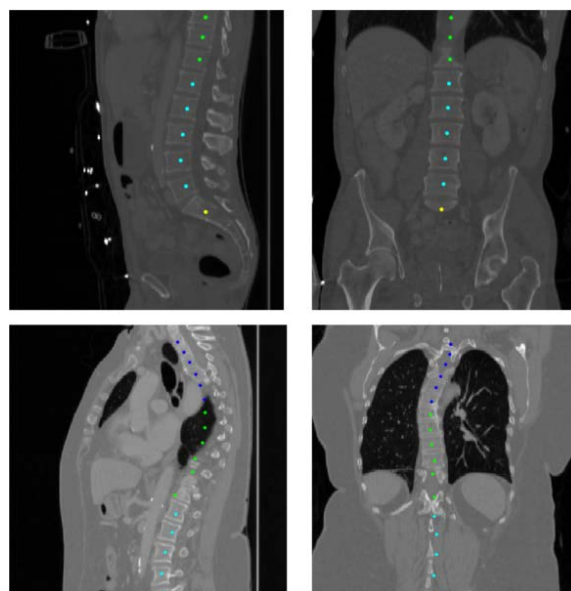


Figura 5. Cálculo centroides

Una vez los centroides de cada una de las vértebras presentes en la imagen estaban detectados y se sabía a qué región pertenecían, con una serie de operaciones lógicas se realizó su identificación (Figura 6).

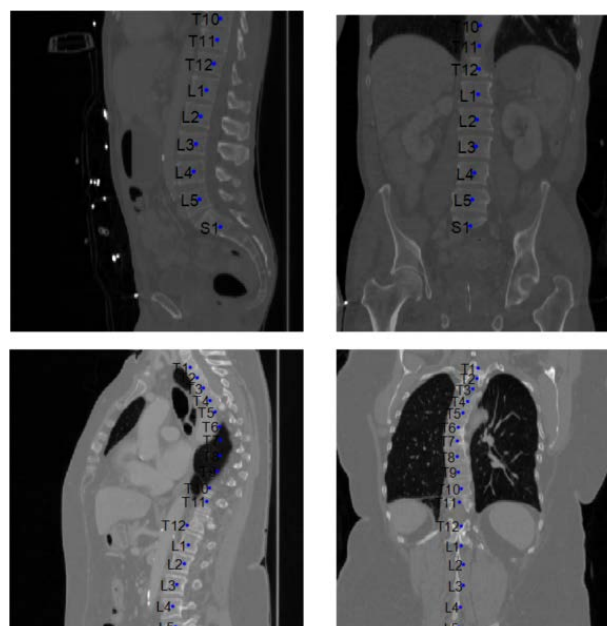


Figura 6. Identificación centroides

5. Resultados y discusión

Para analizar los resultados obtenidos se calculó el error de localización para cada una de las vértebras, el cual se define como la distancia entre la posición del centroide estimada y la real, así como la tasa de identificación. Se considera que una vértebra está correctamente identificada si la distancia entre el centroide estimado y el real es menor de 2cm [5].

	Mediana (mm)	Media (mm)	STD (mm)	TASA ID.
Todas	4.91	7.98	8.73	90.43%
Torácicas	4.12	7.37	8.69	89.20%
Lumbares	6.42	9.21	8.70	92.90%

Tabla 1. Mediana, media y desviación típica del error de localización y tasa de identificación por regiones

En la Tabla 1 se puede observar el error de localización y la tasa de identificación obtenidos para cada una de las regiones. Se puede apreciar que en la región torácica el error de localización obtenido (7.37 ± 8.69 mm) es menor que el obtenido para la región lumbar (9.21 ± 8.70 mm). Sin embargo, vemos que la región lumbar, pese a tener un error de localización mayor, presenta una tasa de identificación mayor (92.90%) que la región torácica (89.20%).

Estos resultados mejoran los obtenidos utilizando la metodología de bosques de decisión, objeto de una publicación reciente por nuestro grupo y en el que se obtuvo un error de localización de 13.73 ± 10.32 mm y tasa de identificación de 77.99%, empleando el mismo dataset que en la presente metodología.

6. Conclusión

Las técnicas de inteligencia artificial permiten detectar e identificar automáticamente las vértebras en imágenes de TC. En concreto, las CNN han demostrado ser útiles para extraer características complejas que permitan clasificar una imagen radiológica en las distintas categorías. Además, al combinar éstas con técnicas de procesamiento de imagen, que permitan detectar la línea central de la columna vertebral, obtenemos un resultado satisfactorio en la detección e identificación de las vértebras.

Referencias

- [1] Criminisi, A., Robertson, D., Konukoglu, E., Shotton, J., Pathak, S., White, S., & Siddiqui, K. (2013). Regression forests for efficient anatomy detection and localization in computed tomography scans. *Medical image analysis*, 17(8), 1293-1303.
- [2] Lu F, Wu F, Hu P, Peng Z, Kong D. Automatic 3D liver location and segmentation via convolutional neural network and graph cut. *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery*. 2016;12(2):171-182.
- [3] Hu P, Wu F, Peng J, Bao Y, Chen F, Kong D. Automatic abdominal multi-organ segmentation using deep convolutional neural network and time-implicit level sets. *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery*. 2016;12(3):399-411.
- [4] Glocker B, Feulner J, Criminisi A, Haynor D, Konukoglu E. Automatic Localization and Identification of Vertebrae in Arbitrary Field-of-View CT Scans. *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2012*. 2012;:590-598.
- [5] Glocker B, Zikic D, Konukoglu E, Haynor D, Criminisi A. Vertebrae Localization in Pathological Spine CT via Dense

Classification from Sparse Annotations. *Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention – MICCAI 2013*. 2013;:262-270.

- [6] Chu C, Belavý D, Armbrrecht G, Bansmann M, Felsenberg D, Zheng G. Fully Automatic Localization and Segmentation of 3D Vertebral Bodies from CT/MR Images via a Learning-Based Method. *PLOS ONE*. 2015;10(11):e0143327.
- [7] Suzani A, Seitel A, Liu Y, Fels S, Rohling R, Abolmaesumi P. Fast Automatic Vertebrae Detection and Localization in Pathological CT Scans - A Deep Learning Approach. *Lecture Notes in Computer Science*. 2015;:678-686.
- [8] Chen H, Shen C, Qin J, Ni D, Shi L, Cheng J et al. Automatic Localization and Identification of Vertebrae in Spine CT via a Joint Learning Model with Deep Neural Networks. *Lecture Notes in Computer Science*. 2015;:515-522.
- [9] Krizhevsky A, Sutskever I, Hinton G. ImageNet classification with deep convolutional neural networks. *Communications of the ACM*. 2017;60(6):84-90.

Extracción de superficie con escáner de luz estructurada para tomografía de ángulo limitado

X. Ye¹, C. de Molina^{1,2}, N. Ballesteros^{1,2}, A. Martínez², M. Desco^{1,2,3,4}, M. Abella^{1,2,3,4}

¹ Depto. Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, España, {monica.abella, manuel.desco}@uc3m.es

² Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España, {desco, mabella}@hggm.es

³ Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC), Madrid, España

⁴ Centro de investigación en red en salud mental (CIBERSAM), Madrid, España

Resumen

En una adquisición estándar de TAC se obtiene un número elevado de proyecciones alrededor de la muestra cubriendo un rango angular de 360°. Sin embargo, existen diferentes escenarios en los que únicamente se pueden adquirir pocas proyecciones en un rango angular reducido. La reconstrucción 3D de estos datos limitados requiere métodos avanzados que incorporen información a priori para compensar la falta de datos. En la literatura se ha propuesto el uso de la información de superficie para la recuperación del contorno de la muestra pero únicamente se han evaluado en simulación y su aplicación práctica incluyendo la extracción de la superficie no ha sido explorada.

En este trabajo se propone el uso de un escáner de luz estructurada para la extracción de la superficie y se describe el protocolo completo para la obtención de imagen 3D a partir de datos limitados. El protocolo propuesto se ha evaluado en un estudio de pequeño animal con el escáner de superficie 3D Artec Eva mostrando la viabilidad de la propuesta.

1. Introducción

En una adquisición estándar de TAC se obtiene un número elevado de proyecciones alrededor de la muestra cubriendo un rango angular de 360°. Sin embargo, existen escenarios de tomografía de ángulo limitado en los que se obtiene un número reducido de proyecciones en un rango angular mucho menor de 360° debido a limitaciones de movimientos (durante cirugía, UCI). Así mismo, en aplicaciones como TAC de energía dual o *gating* respiratorio se obtienen conjuntos de proyecciones limitados para cada voltaje de la fuente o para cada fase del ciclo respiratorio respectivamente. La reconstrucción de estos datos de ángulo limitado con métodos convencionales como FDK presenta diferentes artefactos, principalmente rayas y distorsión de los bordes, que afectan gravemente a la calidad de las imágenes finales.

Para reducir estos artefactos, se pueden utilizar métodos avanzados de reconstrucción que compensen la falta de datos incorporando información a priori, resolviéndolo iterativamente como un problema de optimización [1-5]. En [6] los autores propusieron incorporar la superficie de la muestra como información a priori y así ayudar al problema de reconstrucción restringiendo la solución al subespacio comprendido por la superficie. Resultados preliminares demostraron la mejora significativa reduciendo los artefactos y recuperando el contorno de la

muestra cuando la información de superficie se añadía al problema. Sin embargo, la evaluación fue solo con simulaciones y su aplicación práctica incluyendo la extracción de la superficie no ha sido explorada.

Para la extracción de esta superficie existen dos tipos de escáneres 3D en función de si hay contacto con el objeto o no. Los primeros aportan suficiente precisión cuando se trata de objetos rígidos. Sin embargo, para el caso de tejido blando se producen deformaciones debido a posibles variaciones en la fuerza de contacto del puntero. Los escáneres 3D sin contacto evitan este problema. Entre ellos, el escáner *ConoProbe Mark*, dispositivo basado en holografía conoscópica [7] que emplea la técnica de interferometría y obtiene puntos en 3D de la superficie integrando las medidas de distancias realizadas con un sistema de posicionamiento basado en cámaras de infrarrojo. Este dispositivo es especialmente útil para cavidades biológicas, superficies reflectantes o transparentes pero supone un tiempo elevado de adquisición. Por otra parte, el escáner de luz 3D *Artec Eva* obtiene la superficie en poco tiempo con un dispositivo portátil y no requiere la instalación de cámaras de infrarrojos. Este escáner se basa en la proyección de patrones de luz tipo cuadrícula y en el análisis de la distorsión de dichos patrones. Por estas razones, este escáner es el más adecuado para la obtención de superficie de un paciente en escenarios de radiología.

En este trabajo se presenta un protocolo completo para la obtención de una imagen 3D a partir de datos de tomografía de ángulo limitado. Esto es posible gracias al registro de la superficie de la muestra obtenida con el escáner de luz estructurada 3D *Artec Eva* con las proyecciones adquiridas. El proceso completo se ha probado en un TAC de pequeño animal mostrando la viabilidad del protocolo.

2. Generación de superficie

En la Figura 1 se muestra el flujo de trabajo propuesto para la tomografía de ángulo limitado basada en la extracción de superficie con el escáner 3D portátil *Artec Eva* (*Artec3D*).

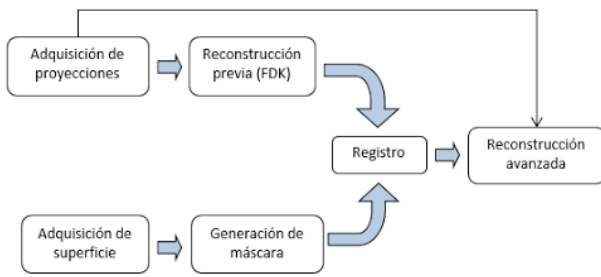


Figura 1. Flujo de trabajo propuesto para tomografía de ángulo limitado

2.1. Adquisición de datos

Para la adquisición de las proyecciones, se colocan tres marcadores radiopacos no metálicos con un diámetro de 4 mm (Figura 2), suficiente para ser visibles por el escáner 3D y así facilitar el registro de la superficie.



Figura 2. Posición de los marcadores sobre la muestra bajo estudio

Se realiza una adquisición TAC de un estudio de roedor utilizando el escáner de pequeño animal Argus PET/TAC (Sedecal) [8] con los siguientes parámetros: 340 μ A, 45 KeV y 360 proyecciones con tamaño de píxel de 0.2 mm. Para simular la obtención de datos de ángulo limitado se seleccionan solo 45 proyecciones en un rango angular limitado de 90°.

A continuación, adquirimos la superficie con el escáner 3D Artec Eva realizando un barrido alrededor de la muestra cubriendo todos los ángulos como se aprecia en la Figura 3.



Figura 3. Captura de la superficie de la muestra con el escáner 3D Artec Eva

2.2. Generación de máscara de superficie

Utilizamos el propio software del escáner, *Artec Studio*, para generar el archivo *.stl* que contiene la malla poligonal a partir de la cual se generará la máscara.

Para ello, fusionamos diferentes barridos con la opción *fusion* generando el resultado mostrado en la Figura 4-A.

A continuación, se limpian todos los objetos que no pertenecen a la muestra con la herramienta manual *Eraser* generando la imagen mostrada en Figura 4-B.

Para el resto de objetos pequeños y desconectados que no han sido eliminados manualmente se utiliza un filtro (opción *Small Objects Filter*) que nos permite quedarnos únicamente con la muestra.

Tras este paso, es importante cubrir todos los agujeros, huecos y bordes con *Hole filling* para generar un volumen cerrado (Figura 4-C).

Finalmente, se centra la malla generada en el sistema de coordenadas deseado (Figura 4-D).

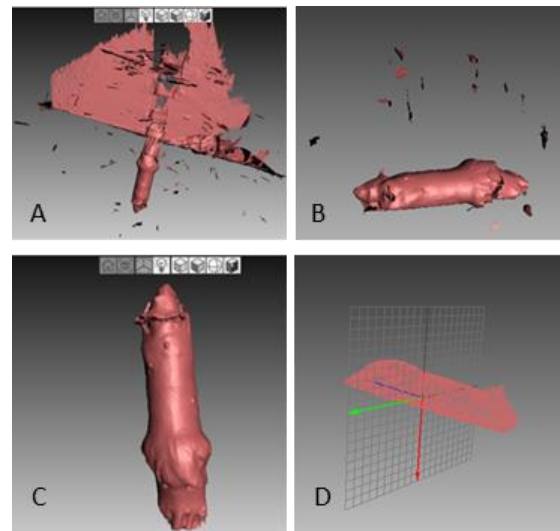


Figura 4. A: datos crudos fusionados sin procesar; B: datos limpiados de objetos grandes; C: datos limpios de objetos pequeños y con las cavidades rellenas; D: datos centrados

El resultado es una malla con la información de los vértices y caras de los polígonos que la forman. Para generar la máscara es necesario convertir los vértices en coordenadas de vóxel asignando "1" a los vóxeles delimitados por la malla y "0" a los vóxeles del fondo. Esto se realiza con la función *Polygon2Voxel* de Dirk-Jan Kroon [9] en Matlab que subdivide los polígonos hasta que el borde más largo mida menos de la mitad de la dimensión del vóxel.

2.3. Registro

La máscara generada anteriormente contiene el volumen entero de la muestra y es necesario corresponder la máscara con la región adquirida en el TAC.

Para ello, se realiza una reconstrucción previa usando *Mongoose* [10], método basado en FDK sobre la que se segmentan los marcadores de forma manual. La correspondencia entre esta reconstrucción previa y la máscara generada se realiza mediante un registro rígido por marcadores con la herramienta *3D Slicer* (<https://www.slicer.org/>). Como resultado obtenemos la máscara orientada y ajustada al campo de visión

adquirido en el TAC. Finalmente con este resultado se realiza un registro más fino basado en información mutua.

La Figura 5 muestra la correspondencia entre la máscara obtenida con el escáner 3D sobre la imagen obtenida a partir de la reconstrucción de datos completos (referencia).

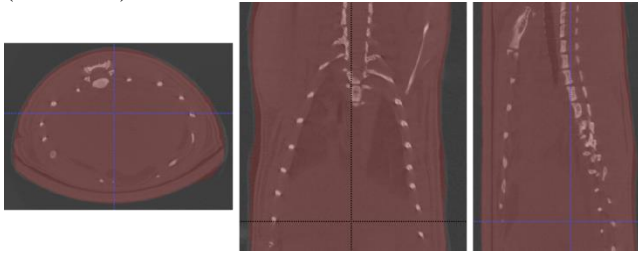


Figura 5. Máscara obtenida con el escáner de superficie (en rojo) superpuesta con la imagen TAC de datos completos (referencia)

Para la evaluación del método se obtiene la máscara ideal a partir de la segmentación de la imagen TAC referencia mediante umbralización y posterior procesamiento morfológico. La Figura 6 muestra la máscara ideal (en blanco) sobre la máscara obtenida con el escáner de superficie. Para su evaluación cuantitativa se ha calculado el índice Sørensen-Dice entre la máscara escaneada y la ideal que nos indica que existe un 94.92% de similitud entre ambas máscaras.



Figura 6. Rodaja central de la máscara obtenida con el escáner de superficie (en gris) superpuesta con la misma rodaja de la máscara ideal (en blanco)

3. Reconstrucción avanzada

Las proyecciones de ángulo limitado se reconstruyen con el método iterativo avanzado propuesto en [6] que hace uso de la máscara de superficie obtenida en los pasos previos. Los parámetros de regularización, que se han obtenido empíricamente, son $\mu=20$, $\alpha=0.003$, $\lambda=1$, $\beta=1$, $\gamma=0.1$ y un número de iteraciones de 35.

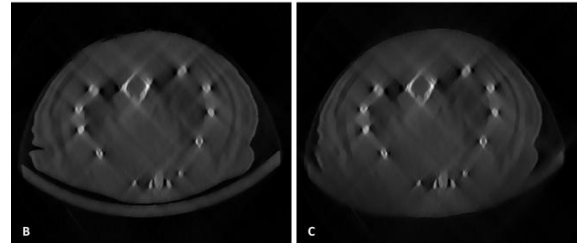
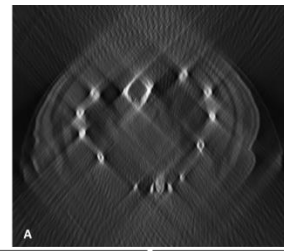


Figura 7. Reconstrucción de la rodaja central con el método convencional FDK (A) y con el método de reconstrucción iterativo usando la máscara ideal (B) y la máscara obtenida con el escáner de superficie propuesta (C)

En el panel A de la Figura 7 se muestra la rodaja central de la reconstrucción previa (FDK), donde se pueden apreciar las bandas y la distorsión del contorno de la muestra debido a la falta de proyecciones y al rango angular limitado. Los paneles B y C muestran el resultado obtenido con el método iterativo avanzado. En ambos casos se recupera correctamente el contorno de la muestra además de reducir los artefactos de bandas. El resultado es similar cuando la máscara ha sido obtenida con el escáner de superficie (Figura 7-C) a la obtenida con la máscara ideal (Figura 7-B).

4. Conclusiones y discusión

Se ha presentado un protocolo completo para la obtención de imagen 3D en escenarios de tomografía con datos limitados.

La falta de datos se compensa con un algoritmo de reconstrucción avanzado que incorpora información de la superficie del paciente. Los resultados obtenidos muestran la viabilidad del uso de un escáner de luz para la extracción de la superficie cuando se adquieren pocas proyecciones en un rango angular muy reducido.

La máscara obtenida con el protocolo propuesto presenta una gran similitud (94.92%) con la máscara ideal obtenida a partir de la imagen TAC. El protocolo propuesto hace uso de un escáner de luz que permite escanear la muestra fácilmente en poco tiempo, sin necesidad de instalación de cámaras de infrarrojos y evitando los problemas adheridos a los sistemas de superficie que requieren contacto directo con la muestra.

La mayor limitación de este trabajo se encuentra en el registro entre la máscara y la reconstrucción previa. Debido a que esta reconstrucción se hace a partir de datos limitados con un método de reconstrucción convencional, presenta muchos artefactos dificultando la segmentación de los marcadores. Además, se utilizan marcadores de uso clínico con un tamaño elevado para estudios de pequeño animal.

Como trabajo futuro se propone hacer uso de la información de textura proporcionada por el escáner de superficie para la mejora del proceso de registro.

5. Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad (proyectos DPI2016-79075-R) y el Instituto de Salud Carlos III (proyecto DTS17/00122).

Referencias

- [1] Matenine D, G.Y., Després P, *GPU-accelerated regularized iterative reconstruction for few-view cone beam CT*. Medical Physics, 2015. **42**(4): p. 1505-17.
- [2] Duan, X., et al., *Few-View Projection Reconstruction With an Iterative Reconstruction-Reprojection Algorithm and TV Constraint*. IEEE Transactions on Nuclear Science, 2009. **56**(3): p. 1377-1382.
- [3] LaRoque, S.J., E.Y. Sidky, and X. Pan, *Accurate image reconstruction from few-view and limited-angle data in diffraction tomography*. Journal of the Optical Society of America. A, Optics, image science, and vision, 2008. **25**(7): p. 1772-1782.
- [4] Molina, C.d., et al. *Evaluation of the possibilities of limited angle reconstruction for the use of digital Radiography system as a tomograph*. in 2014 IEEE Nuclear Science Symposium and Medical Imaging Conference (NSS/MIC). 2014.
- [5] J. Velikina, S.L., G-H. Chen, *Limited view angle tomographic image reconstruction via total variation minimization*. Proc. SPIE 6510, Medical Imaging 2007: Physics of Medical Imaging, 2007.
- [6] Molina C de, Abascal JFPJ, Desco M, Abella M. *Study of the possibilities of Surface-Constrained Compressed Sensing (SCCS) Method for Limited-View Tomography in CBCT systems*. Proceedings of 4th International Conference on Image Formation in X-Ray Computed Tomography, 2016
- [7] Alvarez I, Enguita JM, Frade M, Marina J, Ojea G. *On-line metrology with conoscopic holography: beyond triangulation*. Sensors (Basel), 9(9), 7021-37, 2009
- [8] Vaquero, J. J., Redondo, S., Lage, E., Abella, M., Sisniega, A., Tapias, G., Desco, M. ., *Assessment of a new high-performance small-animal x-ray tomograph*, IEEE Transactions on Nuclear Science, vol. 55, pp. 898-905, 2008.
- [9] D.Kroon, University of Twente (May 2009). https://es.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/24086-polygon2voxel?s_tid=prof_contriblnk
- [10] Abella, M., J.J. Vaquero, A. Sisniega, J. Pascau, A. Udías, V. García, I. Vidal, and M. Desco, *Software Architecture for Multi-Bed FDK-based Reconstruction in Xray CT Scanners*. Computer methods and programs in biomedicine, 2011. (in press). 685618.

Corrección de artefacto por movimiento respiratorio para TAC de pequeño animal en estudios con bajas dosis de radiación

N. Ballesteros Tenrero^{1,2}, C. de Molina Gómez^{1,2}, M. Desco Menéndez^{1,2,3,4}, M. Abella García^{1,2,4}

¹ Depto. Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, España, nballest@pa.uc3m.es, cmlolina@ing.uc3m.es, {monica.abella, manuel.desco}@uc3m.es

² Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España, {nballesteros, cmlolina, desco, mabella}@hggm.es

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

⁴ Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC), Madrid

Resumen

La calidad de las imágenes de micro-tomografía axial computarizada (micro-TAC) en estudios de tórax in vivo queda limitada a los movimientos respiratorios del animal, causantes de artefactos y una pérdida de resolución y contraste en los volúmenes reconstruidos. Las técnicas de gating respiratorio permiten reducir los artefactos ligados al movimiento, pero suelen requerir largos tiempos de adquisición o altas dosis de exposición. En este trabajo se propone un algoritmo para reconstrucción de imágenes libres de artefacto de movimiento respiratorio para un escáner de pequeño animal con geometría cone-beam basado únicamente en el postproceso de las proyecciones. La innovación del método recae en su usabilidad para dosis reducidas de radiación. La evaluación se ha realizado sobre estudios in vivo de pequeño animal bajo libre respiración.

1. Introducción

Los sistemas micro-TAC se han convertido en una herramienta revolucionaria en investigación debido al aumento de modelos animales de enfermedades humanas. En concreto, la gran diferencia en la absorción de rayos X entre el tejido pulmonar y el aire contenido en los pulmones convierten al micro-TAC en una técnica idónea para estudios pulmonares. Sin embargo, el movimiento de la cavidad torácica del animal durante la respiración en estudios *in vivo* puede llegar a 5 mm causando una disminución de la resolución espacial y del contraste en la imagen reconstruida. La adquisición de imágenes de pulmón in vivo libres de artefactos de movimiento supone un reto técnico.

Distintos métodos se han propuesto en la literatura para reducir los artefactos debidos al movimiento respiratorio, desde los que tratan de restringir el movimiento mediante el empleo de cintas colocadas alrededor del tórax [1], hasta las estrategias conocidas como *gating*. En estos últimos, los datos de tomografía adquiridos se sincronizan con el ciclo respiratorio, de manera que sólo aquellas proyecciones que pertenecen a la misma fase pulmonar son empleadas para la reconstrucción.

Las técnicas de *gating* han sido categorizadas en prospectivas [2-4] y retrospectivas [6-7]. En las primeras, los datos se adquieren en una fase específica del ciclo respiratorio, requiriendo la sincronización de la adquisición en el escáner TAC con una señal obtenida mediante dispositivos externos que monitorizan la respiración. Las técnicas retrospectivas simplifican la adquisición adquiriendo los datos continuamente a lo largo de todo el ciclo respiratorio y clasificando la información a posteriori mediante post-procesado para reconstruir una única fase del ciclo. Esta clasificación puede realizarse en base a una señal respiratoria monitorizada durante la adquisición, o a partir de las propias imágenes de proyección [8-12]. El principal problema de estas técnicas es que aumentan la dosis de radiación para el animal. Dado que sólo las proyecciones correspondientes a una fase del ciclo respiratorio serán útiles para la reconstrucción de la imagen 3D, es necesario un sobremuestreo que garantice que todo el rango angular quede cubierto, aumentando con ello el tiempo de exposición.

En este trabajo se propone un algoritmo de *gating* retrospectivo para sistemas TAC de pequeño animal con geometría *cone-beam* que permite realizar estudios con bajas dosis de radiación. La evaluación se ha realizado sobre estudios in vivo de pequeño animal bajo libre respiración.

2. Método

El diagrama de flujo del método propuesto en este trabajo se representa en la Figura 1. El algoritmo ha sido implementado empleando MATLAB (The MathWorks Inc., Natick, MA, USA).

El paso de normalización trata de minimizar las variaciones de atenuación dependientes de la posición angular descrita por otros autores [13]. Para ello, a cada proyección se le resta la imagen media obtenida a partir de un subconjunto de proyecciones contiguas en el tiempo, de forma que las diferencias de atenuación resultantes sean solo debidas al proceso de respiración.

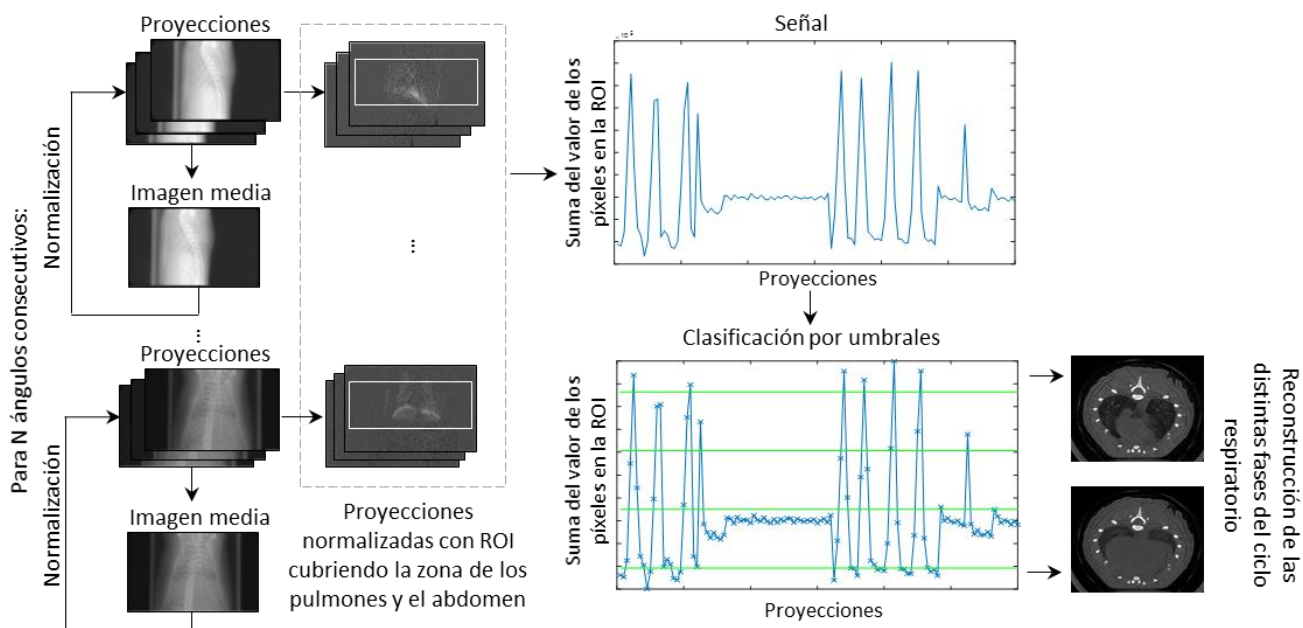


Figura 1. Esquema del algoritmo propuesto

2.1. Obtención de la señal respiratoria equivalente

La señal respiratoria se obtiene a partir de la diferencia de atenuación en la región del pulmón en las distintas etapas del ciclo respiratorio (Figura 2). Esta diferencia de atenuación está correlacionada con la cantidad de aire en los pulmones, reflejando las diferencias en la posición del diafragma entre las fases de inspiración profunda y final de espiración. Para poder descartar aquellos cambios de atenuación que se produzcan en otras estructuras distintas a los pulmones, el valor de la señal se calcula a partir de la suma de los píxeles en una región de interés (ROI). La ROI es seleccionada por el usuario una única vez al comienzo del algoritmo de forma manual, mediante el dibujo de un rectángulo que debe englobar el diafragma y los pulmones.

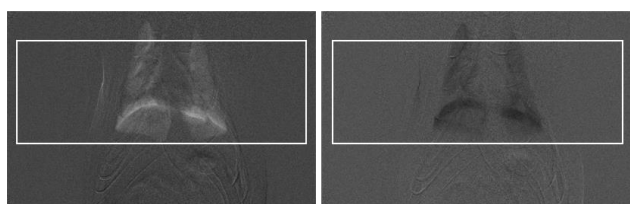


Figura 2. Diferencia de atenuación en la región del pulmón entre la fase de inspiración (izquierda) y espiración (derecha) en las proyecciones normalizadas.

2.2 Clasificación de datos

El algoritmo propuesto realiza una clasificación de las proyecciones en distintos grupos (*bins*) basada en la amplitud de la señal. Esto permite reconstruir una serie de volúmenes 3D aportando información temporal.

Con el objetivo de reducir la dosis de exposición, el tiempo de adquisición para un determinado ángulo de incidencia tenderá a ser menor que la duración de un ciclo respiratorio completo. Las señales obtenidas a lo largo de

varios ángulos de adquisición son concatenadas para poder así realizar un análisis de amplitud basado en varios ciclos de respiración (Figura 3).

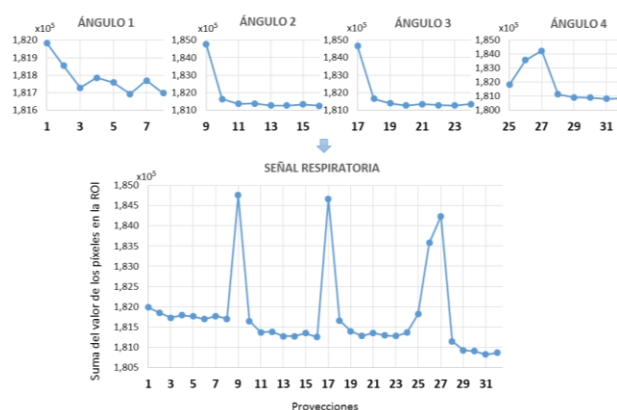


Figura 3. (Arriba) Señal obtenida para 4 ángulos consecutivos con 8 proyecciones por ángulo. (Abajo) Concatenación de las señales anteriores generando una señal con varios ciclos respiratorios.

El número de ángulos que concatenemos dependerá de la capacidad computacional del ordenador, pudiendo llegar a analizarse en una única iteración el conjunto de proyecciones adquiridas, o calculando fragmentos de la señal respiratoria a lo largo de varias iteraciones.

En el algoritmo propuesto se aplica una división de la señal en 5 niveles de amplitud basada en umbralización. Para ello se calcula la media y la desviación estándar de los máximos ($media_{max}$, σ_{max}) y de los mínimos ($media_{min}$, σ_{min}) de la señal y se fijan los siguientes umbrales:

$$Umbral1 = media_{max} - \sigma_{max};$$

$$Umbral2 = media_{min} + \sigma_{min}$$

Los dos umbrales restantes para conseguir una división en 5 grupos se fijan a 1/3 y 2/3 de la amplitud entre el umbral 1 y el umbral 2.

$$\text{Umbral3} = 1/3 * (\text{umbral1} - \text{umbral2}) + \text{umbral2};$$

$$\text{Umbral4} = 2/3 * (\text{umbral1} - \text{umbral2}) + \text{umbral2};$$

Tras esta primera clasificación, se realiza una evaluación más exhaustiva del valor de la señal de las imágenes agrupadas en el mismo *bin*. En este caso, para cada *bin*, se calcula la media y la desviación estándar de los valores de la señal ($\text{media}_{\text{bin}}$, σ_{bin}) y se eliminan todas aquellas proyecciones cuyo valor quede fuera del intervalo $[\text{media}_{\text{bin}} - \sigma_{\text{bin}}, \text{media}_{\text{bin}} + \sigma_{\text{bin}}]$.

De este modo, las diferencias entre proyecciones pertenecientes al mismo *bin* se asumen despreciables, aunque la variabilidad natural de la anatomía es inevitable a lo largo del escáner.

3. Evaluación y resultados

El algoritmo propuesto se ha evaluado en estudios in vivo de rata con libre respiración, adquiridos en el equipo de pequeño animal ARGUS CT fabricado por la empresa SEDECAL. En este trabajo se muestran los resultados obtenidos para 2 estudios, uno de alta exposición, propio de las técnicas de *gating*, y un estudio estándar que conlleva una baja dosis de radiación.

Para la adquisición de ambos estudios se empleó un protocolo step and shoot cubriendo 360 posiciones angulares, con un voltaje de 65kV y una corriente de 200 μA , obteniendo imágenes de 768x486 píxeles, con un tamaño de píxel de 0.2mm. El número de imágenes por ángulo fue de 32 en el estudio de alta dosis, y 8 en el estudio de baja dosis.

Para cada estudio, los datos de proyección se han dividido en 5 fases temporales con el algoritmo propuesto. Cada una de esas fases se reconstruyó usando un método convencional basado en FDK [14], y el método de reconstrucción avanzado propuesto en [15]. Además se ha realizado una reconstrucción de los datos completos de proyección con FDK. En todos los casos se han obtenido volúmenes de 768x768x486 píxeles con un tamaño de vóxel de 0.11528mm³.

La Figura 4 muestra el resultado de la reconstrucción de los datos completos y de los datos correspondientes a la fase de inspiración profunda una vez aplicado el algoritmo de *gating* propuesto. Se puede observar el incremento del contraste y de la definición de detalles (flechas) en las estructuras pulmonares con el algoritmo propuesto con respecto a los datos sin corrección. Además, se observa que los artefactos que resultan en una reconstrucción convencional (FDK) son eliminados cuando se emplea el método avanzado, siendo especialmente destacable la diferencia entre ambos métodos para el caso de 8 imágenes por ángulo (baja dosis).

La Figura 5 muestra el resultado del perfil indicado en amarillo en la Figura 4 para la reconstrucción de datos

completos (sin *gating*) y las reconstrucciones correspondientes a la fase de inspiración profunda y fin de la espiración para el estudio de alta dosis. Los perfiles muestran la recuperación del movimiento entre las diferentes fases, eliminando el emborronamiento presente en la reconstrucción sin *gating*.

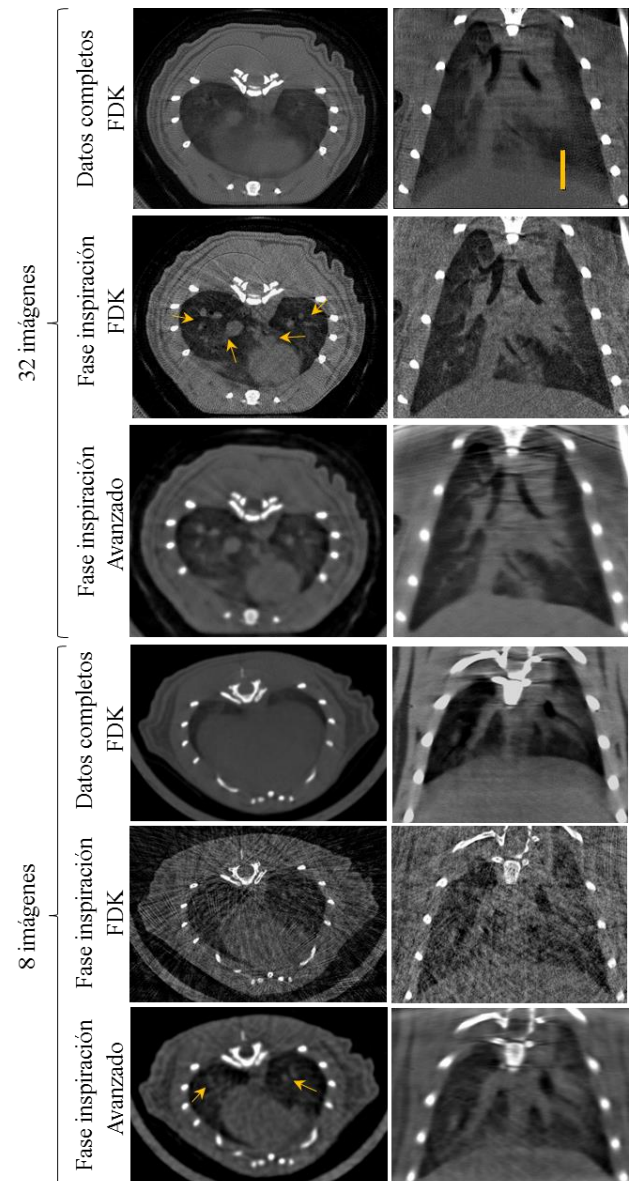


Figura 4. Cortes axiales y coronales para un estudio de alta dosis (arriba) y baja dosis (abajo).

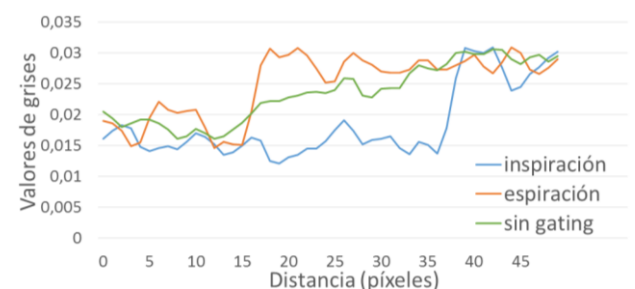


Figura 5. Perfiles trazados en la zona del diafragma.

4. Discusión

Las técnicas de *gating* son necesarias en estudios de imagen de tórax para prevenir la aparición de artefactos de movimiento en la imagen reconstruida. La mayoría de los métodos propuestos en la bibliografía suponen largos tiempos de adquisición y/o un aumento en las dosis de radiación para el animal.

En este trabajo se propone un método de *gating* para equipos TAC de pequeño animal que permite realizar estudios *in vivo* con bajas dosis de radiación. El método permite recuperar información temporal generando una serie de datos tridimensionales que podrían servir de utilidad para evaluar la funcionalidad de los pulmones.

La obtención de la señal respiratoria a partir únicamente de los datos crudos adquiridos en el escáner elimina la necesidad de hardware adicional para el registro de la señal.

Los resultados de la evaluación del algoritmo con estudios *in vivo* de pequeño animal bajo libre respiración muestran su capacidad para mejorar el detalle y el contraste de las imágenes corregidas.

El algoritmo conlleva una pérdida de datos propia de los métodos retrospectivos durante el proceso de clasificación que, añadido a un número limitado de proyecciones en un estudio de baja radiación puede resultar en reconstrucciones de baja calidad. La combinación del algoritmo con técnicas de reconstrucción avanzadas permite su aplicación para estudios con bajas dosis de radiación.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad (proyectos DPI2016-79075-R) y el Instituto de Salud Carlos III (proyecto DTS17/00122).

Referencias

- [1] N. M. De Clerck *et al.*, "High-Resolution X-ray Microtomography for the Detection of Lung Tumors in Living Mice," vol. 6, no. 4, pp. 374–379, 2004.
- [2] I. G. Buliev, C. T. Badea, Z. Kolitsi, and N. Pallikarakis, "Estimation of the Heart Respiratory Motion With Applications for Cone Beam Computed Tomography Imaging: A Simulation Study," vol. 7, no. 4, pp. 404–411, 2003.
- [3] E. B. Walters, K. Panda, J. A. Bankson, E. Brown, and D. D. Cody, "Improved method of *in vivo* respiratory-gated micro-CT imaging," vol. 4163.
- [4] N. L. Ford *et al.*, "Prospective respiratory-gated micro-CT of free breathing rodents Prospective respiratory-gated micro-CT of free breathing rodents," vol. 2888, no. 2005, 2013.
- [5] S. H. Bartling, P. Peschke, and F. Kiessling,

"Retrospective Motion Gating in Small Animal CT of Mice and Rats," vol. 42, no. 10, pp. 704–714, 2007.

- [6] N. L. Ford, A. R. Wheatley, and D. W. Holdsworth, "Optimization of a retrospective technique for respiratory-gated high speed micro-CT of free-breathing rodents," vol. 5749.
- [7] N. L. Ford, A. Jeklin, K. Yip, D. Yohan, D. W. Holdsworth, and M. Drangova, "Optimization of Image Quality in Retrospective Respiratory-Gated Micro-CT for Quantitative Measurements of Lung Function in Free-Breathing Rats," vol. 1, no. March, pp. 157–172, 2014.
- [8] J. Hu, S. T. Haworth, R. C. Molthen, and C. A. Dawson, "Dynamic Small Animal Lung Imaging Via a Postacquisition Respiratory Gating Technique using Micro-Cone Beam Computed Tomography 1," pp. 961–970, 2004.
- [9] C. Chavarrias *et al.*, "Validation of a retrospective respiratory gating method for small-animal CT scanners," pp. 4303–4305, 2008.
- [10] S. H. Bartling *et al.*, "Intrinsic respiratory gating in small-animal CT," *Eur. Radiol.*, vol. 18, no. 7, pp. 1375–1384, 2008.
- [11] J. Kuntz, J. Dinkel, and S. Zwick, "Fully automated intrinsic respiratory and cardiac gating for small animal CT," vol. 2069.
- [12] A. Hahn, S. Sauppe, M. Lell, and M. Kachelrieß, "Automatic intrinsic cardiac and respiratory gating from cone-Beam CT scans of the thorax region," *Proc. SPIE 9783 Med. Imaging Phys. Med. Imaging*, vol. 9783, pp. 1–6, 2016.
- [13] A. Kavanagh, P. M. Evans, V. N. Hansen, and S. Webb, "Obtaining breathing patterns from any sequential thoracic x-ray image set.," *Phys. Med. Biol.*, vol. 54, no. 16, pp. 4879–4888, 2009
- [14] M. Abella, J.J. Vaquero, A. Sisniega, J. Pascau, A. Udías, V. García, I. Vidal, and M. Desco, "Software Architecture for Multi-Bed FDK-based Reconstruction in Xray CT Scanners". *Computer methods and programs in biomedicine*, 2011.
- [15] J.F.P.J Abascal, M. Abella, A. Sisniega, J.J. Vaquero, and M. Desco. "Investigation of different sparsity transforms for the PICSS algorithm in small-animal respiratory gated CT". *PLOS ONE* 10 (4): e0120140, 2015. DOI: 10.1371/journal.pone.0120140. (Data used for this publication available from <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.15685>)

Accurate lung segmentation of thorax CT images on a tuberculosis infection model

B. Zufiria¹, L. Fernández-Terrón¹, P. Macías^{1,2}, S. Sharpe³, M. Desco^{1,2,4,5}, A. Muñoz-Barrutia^{1,2}, J.J. Vaquero^{1,2}

¹ Bioengineering and Aerospace Engineering Department, Universidad Carlos III de Madrid, Leganés, Spain, {100307044, 100316565}@alumnos.uc3m.es, {pedro.macias, manuel.desco, mariaarrate.munoz, juanjose.vaquero}@ing.uc3m.es

² Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, Spain

³ Microbiology Service Division, Public Health England, Porton Down U.K sally.sharpe@phe.gov.uk

⁴ Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Madrid, Spain

⁵ Centro de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC), Madrid, Spain

Abstract

Tuberculosis (TB) remains the world's second-deadliest disease transmitted by a single infectious agent. It is urgent to develop better diagnostic tests and more effective multi-drug cocktails to improve the disease outcome. The main reservoir for these bacteria is the lungs, what makes them the most suitable location for its detection. Drug assays of new chemotherapies for treating TB require following the subjects longitudinally to assess response at several time points. In this context, the purpose of this work is to present an accurate lung segmentation algorithm for tuberculosis disease burden quantification in chest Computed Tomography (CT) scans. Building on an in-house developed lung segmentation workflow, we present and evaluate the performance of a novel algorithm able to automatically detect and extract viscera (i.e., stomach, liver, spleen) erroneously attached to the lung. Further, we evaluate the improvement on the quantification of damaged tissue obtained on the accurately segmented lungs and conclude that the refinement is relevant for the pre-clinical evaluation of the disease burden.

1. Introduction

The infection caused by Mycobacterium tuberculosis (MTB), which mainly affects the lungs, is one of the top 10 causes of death worldwide according to the World Health Organization [1]. Moreover, an estimated number of 480,000 people developed multidrug resistant TB (MDR-TB) [1], which increases the urgent need to develop better diagnostics test and more effective treatments.

However, the drug development pathway in TB is not completely integrated having important unanswered questions at every stage [2]. It remains unclear to what extent preclinical methods capture the right pharmacodynamics of a drug or reproduce the conditions under which it should act. Thus, developing a single drug for TB is challenging, but identifying the best drugs combination to obtain the most effective treatment regime is even harder.

In this context, High Resolution Computed Tomography (HRCT) has been employed to evaluate TB progression and response to therapy both in humans and in specific animal models, in our case, a Tuberculosis infection

model on an animal of medium size. With this aim, we have implemented a workflow that segments TB infected lungs in chest CT scans automatically [3], adapted from [4]. Further, an imaging biomarker based on the intensity differences between healthy and diseased lung parenchyma is extracted from the previously computed lung masks allowing the longitudinal evaluation of disease burden.

The anatomy of the chest in clinical and preclinical models is a challenge for automatic lung segmentation procedures. The trachea is usually included in the final segmentation although it can be deleted using some anatomical information. The same happens with some viscera in the abdominal cavity (i.e., stomach, liver, spleen) positioned below the left lung, and sometimes included in the final lung segmentation.

In this work, we present and evaluate a new algorithm, which was integrated in the above-mentioned workflow, to deal with this issue. It automatically detects the viscera, sometimes attached to the left lung, and removes it from the whole lung segmentation. Then, the goodness of the improved lung segmentation is evaluated. We also demonstrate that the parenchyma is more precisely classified as healthy and diseased (hard and soft tissue) after the refinement step.

2. Materials and Methods

2.1. CT Images

Our data consists of forty-five chest CT scans acquired from nine separate subjects at 8, 12, 16, 20 and 24 weeks after exposure to the Mycobacterium tuberculosis bacteria at the Microbiology Service Division of Public Health at Porton Down U.K. The subjects are separated in two different treatment groups.

2.2. Automatic Lung Segmentation Tool

Our automatic lung segmentation tool is written in Python using SimpleITK [5]. The pipeline is divided in three main steps (Figure 1): Lung segmentation, airways tree extraction and hole filling.

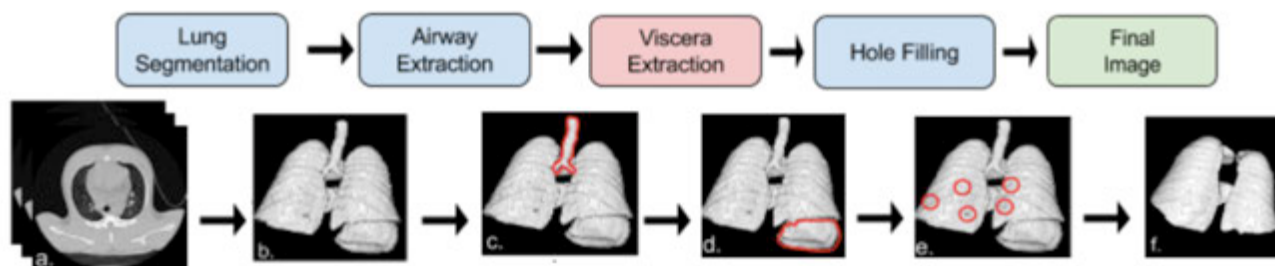


Figure 1. Workflow for the automatic lung segmentation tool: (a) Chest CT scan of the tuberculosis infected subject; (b) Segmented lung volume with the viscera attached to the left lung; (c) Trachea mask after the airway extraction step (outline in red); (d) Viscera mask after the viscera extraction step (outline in red); (e) Holes in the mask before the morphological closing step (outline in red); (f) Final mask of the infected lungs after the holes have been filled and the viscera removed.

1. **Lung Segmentation:** The air-filled structures (parenchyma and airway lumen) are isolated from the chest CT scan using an automatic adaptive thresholding combined with connectivity and topological analysis as described in [6].

2. **Airways Tree Extraction:** The trachea is automatically detected using prior information on its size and anatomical position. A seed voxel is defined on the centroid of the airways tree region located on the top-most position. From this seed position, the trachea and the rest of the main airways tree grows through the propagation of a wavefront using a three-dimensional fast marching algorithm [7]. At each step, leakage and bifurcation checks are performed until the propagation ends and the trachea and the main airways are completely segmented. Further details can be found in [8]. Once segmented, these structures are deleted from the whole lung segmentation.

3. **Hole Filling:** The algorithm described above is well suited to segment healthy lung but Tuberculosis lesions are mostly excluded. To mitigate this issue, a morphological closing operation fills the inner cavities including the damaged tissue in the lungs segmentation. An iterative hole-filling filter is applied for this morphological 3D closing.

2.3. Attached Viscera Extraction Algorithm

The main contribution of this work is the integration of an additional step in the lung segmentation algorithm workflow to perform the automatic detection and extraction of portions of viscera (most frequently stomach) retained in the lung segmented mask.

This new post-processing method is implemented in the workflow between the Airway Extraction and the Morphological Closing steps (see Figure 1 (d)). It is divided in three main processes as illustrated in Figure 2:

1. **First detection:** The viscera is detected seeking slice-by-slice, the first isolated air-filled area with a diameter in the range of 140-500 [mm] and a roundness higher than 0.8. The parameters were heuristically set.

2. **Complete selection and removal:** Starting from the first slice of viscera encountered, connected-component labelling is applied on the whole segmented volume and the detected component removed from the lung mask.

3. **Viscera and lung attachment detection:** It can happen that the procedure described in steps 1 and 2 is not enough to remove the whole attached viscera (e.g., isolated portions). To achieve the complete removal, the contours detected on previous steps are subtracted and the viscera detection is performed again on the pre-process lung mask.

2.4. Tuberculosis Infected Lungs Quantification

Our workflow incorporates a functionality to automatically compute an imaging biomarker based on the intensity differences between healthy and diseased lung parenchyma.

As described in Chen *et al.* [9], the histogram was used to define healthy and diseased-associated lung volumes, being the latter one classified in soft and hard tissue (see Figure 3).

- **Healthy volume** (-1024 to -500 HU): It corresponds to the region of the lung occupied by aerated (without visible lesions) parenchyma.
- **Soft diseased volume** (-500 to -100 HU voxels): It corresponds to lower density abnormal tissue, mainly correlated with small-to-medium nodular lesions, ground glass opacities and diffuse pulmonary infections. Soft diseased lung volume may correspond to both healing lesions and to new forming lesions.
- **Hard diseased volume** (-100 to 200 HU): It corresponds to the higher-density abnormalities (large nodular lesions, consolidations, fibrosis and bronchial thickening).

For our experiment, the thresholds were manually defined to take into account the variations in the inflation of the freely breathing animals [3]. Note that as upper threshold for the hard-diseased lung volume, 1024 HU was taken to include the densest lesions.

The imaging biomarker is the relative diseased volume defined as the ratio of the combination of hard and soft diseased volume by the total lung volume. The computed volumes at the given time points can be used to study the longitudinal evolution of the disease.

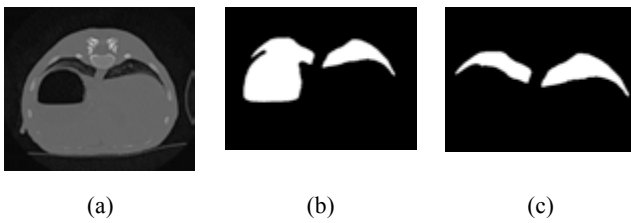


Figure 2: Illustration of the steps followed to eliminate the attached viscera: (a) Axial CT slice of one subject where the viscera can be seen attached to the left lung; (b) Lung mask obtained with the basic algorithm; (c) Refined lung mask obtained after the post-processing.

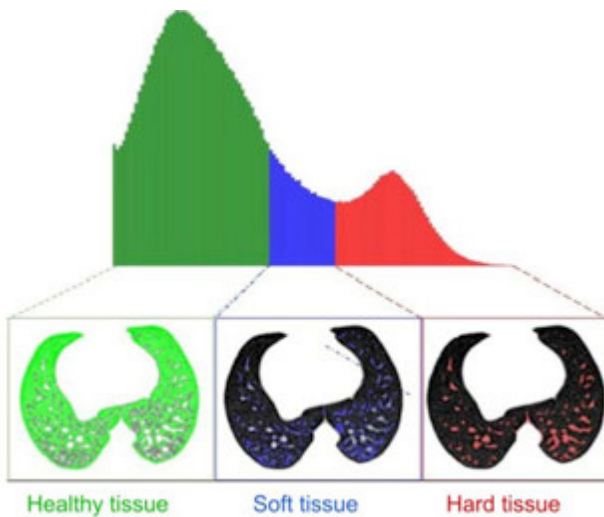


Figure 3: Manual extraction of the tuberculosis biomarker. Graphical representation of the manually defined thresholds to separate the lung histogram into three volumes: Healthy, soft diseased and hard diseased volume.

2.5. Evaluation of the Viscera Extraction

To evaluate the performance of the attached viscera extraction algorithm, the filled-with-air viscera close to the left lung were annotated on all the volumes.

Then, the Dice Similarity Coefficient (DSC) defined as

$$DSC = \frac{2 \cdot |A \cap B|}{|A| + |B|}$$

(where A and B correspond to each of the mask to compare) was obtained using two different sets of masks as inputs.

We first compare the manual viscera and the lung mask obtained with the refinement algorithm. In this case, we expect DSC values close to zero, because after the viscera extraction step, the masks should not overlap.

Then, we compare the overlap between the refined lung mask and the original lung mask from which the manually annotated viscera has been removed. With this experiment, we aim to demonstrate that the refined segmentation correctly delineates the lungs. In this case, we expect the recovered DSC values to be close to one.

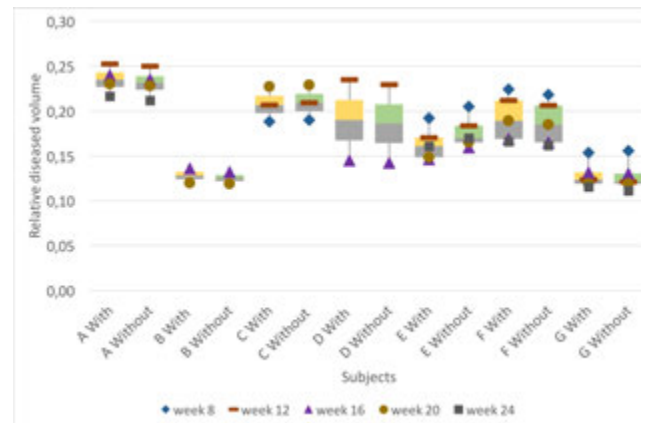


Figure 4: Box plots of the relative diseased volume per subject measured before (shown in yellow) and after the viscera extraction step (shown in green).

The Hausdorff distance (HD) and the Hausdorff distance averaged (HDA) were also computed on this dataset. The HD represents the maximum distance between two segmented surfaces and it is defined as:

$$HD = \max(\max_{s_a \in S(A)} d(s_a, S(B)), \max_{s_b \in S(B)} d(s_b, S(A))),$$

where s_a and s_b represent the points in the surfaces of A and B, $S(A)$ and $S(B)$ the set of all the points in the surfaces of A and B, respectively, and d the Euclidean distance. This measure is very sensitive to outliers.

The HDA is computed as the average of all the distances between surfaces and consequently, gives a global idea of how similar the topologies of both surfaces are.

3. Results

3.1. Evaluation of the Viscera Extraction

When measuring the overlap between the manual viscera annotation and the mask computed using the improved algorithm, the DSC is 0.014 ± 0.017 .

While the overlap between the refined lung mask and the original mask from which the manually annotated viscera has been removed, the DSC is 0.991 ± 0.005 . The HD is 14.5 ± 8.406 and the HAD, 0.016 ± 0.019 , both measures are given in millimetres.

The results of the evaluation demonstrate that the novel post-processing step is working properly. The low DSC value in the first comparison means that the viscera portion kept in the lungs mask is residual. However, when comparing clean lungs (second case), we obtain nearly perfect overlap of the lung masks.

This result is supported by the small value of the HAD indicating a good concordance of the surfaces topologies. Note that the relatively high value of the mean HD is due to a faulty viscera extraction in a limited number of slices as demonstrated by the large standard deviation.

3.2. Improvement in the Quantification of the Diseased Lung Volume

After the post-processing, for all the selected cases, the volume of the lung mask decreases as the erroneously included viscera has been mostly removed. In particular, the total volume of healthy and diseased tissue gets reduced (data not shown). Moreover, the differences between the total healthy and diseased lung volumes before and after the refinement step are statistically significant (t-test, p -value <0.001).

However, referring to relative volumes, in most of the patients, the relative diseased volume tends to decrease as can be observed in Figure 4. Correspondingly, the relative healthy volume tends to increase as both (relative diseased and healthy) sums up to one. Nevertheless, the differences are not statistically significant as it is the case for the total volumes.

4. Conclusions

We have proposed a viscera extraction algorithm that has been integrated in our lung segmentation workflow. Namely, it remains fully automatic and the detection of the attached viscera is based on some a priori information of their location and size.

The post-processing algorithm has been proved to work properly, eliminating the viscera attached to the left lung, as demonstrated by the performed evaluations that just give a residual volume overlap between the annotated viscera and the refined lung masks. The maximal distance between the surfaces is not negligible, pointing out to some local errors of the post-processing. In other words, the HD is very sensitive to outliers. So, when a small portion of the viscera is not completely removed by the post-processing, it generates considerably large HD values. Fortunately, the average distances are very small indicating a global good performance of the algorithm.

The volumetric data of the original lung segmentations (with part of the viscera included) are largely distorted. Namely, the total, healthy and diseased lung volumes have an error that it is impossible to predict. With the attached viscera extraction algorithm implemented in the automatic segmentation tool, we reduced the total volume just focusing on the lungs obtaining more precise results.

This further changes the relative lung volumes measures. Observing the relative healthy and diseased lung volumes, as the latter shows a decreasing trend, the healthy has the opposite behaviour. This means that the lung segmentation workflow without the improvement includes part of the false positive volume as healthy tissue and another random part as diseased. Consequently, the lung segmentation without including the viscera allows obtaining a more realistic longitudinal evolution of the disease and ultimately, a more precise assessment of treatment response.

Acknowledgements

The research leading to these results was supported by funding from the Innovative Medicines Initiative Joint

Undertaking under grant agreement n° 115337, the resources of which comprise financial contributions from the European Union's Seventh Framework Program (FP7/2007-2013) and EFPIA companies ('in kind contribution'). This work was also partially funded by the projects TEC2013-48552-C2-1-R, TEC2014-56600-R, RTC-2015-3772-1, TEC2015-73064-EXP and TEC2016-78052-R from the Ministry of Economy, Industry and Competitiveness (MEIC). The CNIC is supported by MEIC and the Pro CNIC Foundation, and is a Severo Ochoa Center of Excellence (SEV-2015-0505).

References

- [1] World Health Organization (WHO) official webpage. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs104/en/> (Accessed: 11-Jul-2016).
- [2] PreDiCT-TB project webpage. <http://www.predict-tb.eu/> (accessed 29-Sept-2019).
- [3] Muñoz-Hernando M, Macias P, Abella M, Desco M, Sharpe S, Vaquero J.J., Muñoz-Barrutia A. Preliminary Evaluation of a Radiological Biomarker to Characterize the Longitudinal Evolution of Tuberculosis. Libro de Actas del XXXIV Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB'16), 2016.
- [4] Artaechevarria X, Blanco D, de Biurrun G, Ceresa M, Perez-Martin D, Bastarrika G, de Torres JP, Zulueta JJ, Montuenga LM, Ortiz-de-Solorzano C, Muñoz-Barrutia A. Evaluation of micro-CT for emphysema assessment in mice: comparison with non-radiological techniques, *Eur Rad*, vol. 21, n. 5, pp. 954-962, 2011.
- [5] Lowekamp BC, Chen DT, Ibáñez L and Blezek D (2013) The Design of SimpleITK. *Front. Neuroinform.* 7:45. doi: 10.3389/fninf.2013.00045
- [6] Hu S, Hoffman E, Reinhardt J. Automatic lung segmentation for accurate quantification of volumetric x-ray CT images. *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 20, 2001, pp. 490-498.
- [7] Schlathoelter T, Lorenz C, Carlsen IC, et al. Simultaneous segmentation and tree reconstruction of the airways for virtual bronchoscopy. *Proc SPIE*, vol. 4684, 2002, pp. 103-113.
- [8] Artaechevarria X, Perez-Martin D, Ceresa M, de Biurrun G, Blanco D, Montuenga LM, van Ginneken B, Ortiz-de-Solorzano C, Muñoz-Barrutia A. Airway segmentation and analysis for the study of mouse models of lung disease using micro-CT, *Phys Med Biol*, vol. 54, n. 22, pp. 7009, 2009.
- [9] Chen RY, Dodd LE, Lee M, Paripati P, Hammoud DA, Mountz JM, Jeon D, Zia N, Zahiri H, Coleman MT et al. PET/CT imaging correlates with treatment outcome in patients with multidrug-resistant tuberculosis. *Science translational medicine*, vol.6, no. 265, 2014, pp.265ra166

Telemedicina II

Jueves, 30 de Noviembre

Machine learning para el análisis de terapia en Reminiscencia para personas con deterioro cognitivo

B. García-Zapirain Soto¹, J. Maria Zorriketa², A. Ayarza², C. Castillo Olea¹, A. Muro de la Hernan¹, A. Gorozika Bidaurratzaga³,
C. Gimenez Elorriaga¹, L. Grasa Marcuello³, Y. García Chimeno¹

¹Grupo eVIDA, Universidad de Deusto, Bilbao, España, {mbgarciazapi@deusto.es}

²Federación Española de Asociaciones de Futbolistas Veteranos, España

³Diputación Foral de Bizkaia- IFAS, Bilbao, España

Resumen

Este artículo presenta el análisis de terapia basada en Reminiscencia para las personas con deterioro cognitivo sobre la temática del fútbol. Para las personas con deterioro cognitivo el fútbol es uno de los elementos que pueden lograr que los pacientes exterioricen aquellos recuerdos históricos que aún no han desaparecido. El objetivo principal de este artículo es determinar la eficacia de la terapia utilizando la técnicas machine learning para el procesado de datos. En el experimento participaron 22 pacientes mediante una batería de variables pre y post. Los resultados obtenidos validan la eficacia de la terapia de reminiscencia donde las variables comunicación con una frecuencia de 5 y un porcentaje de 83.33%; calidad de vida con frecuencia 4 y porcentaje 66.66%; TMT.A con frecuencia 33.33% y MEC con frecuencia 1 y porcentaje 16.66%, por tanto ha quedado validada la aplicación y tales variables dan como resultado la eficacia de la terapia, detonando mejoras en el estado de salud de los adultos mayores.

1. Introducción

Los recuerdos del fútbol como terapia no farmacológica para personas mayores con deterioro cognitivo es una alternativa que se plantea la Federación Española de Asociaciones de Futbolistas Veteranos (FEAFV) [1–3]. La información en la memoria puede encontrarse en dos estados: disponible o accesible [4]. La terapia de reminiscencia, es un tipo de intervención psicológica utilizada como terapia de estimulación cognitiva para personas con deterioro cognitivo, con el fin de determinar si es posible observar mejoras en el estado de salud de los pacientes. Consiste en recordar recuerdos de la historia personal del sujeto, estimular el proceso de la memoria, con la reactivación del pasado personal y el mantenimiento de su propia identidad y orientación auto psíquica [5]. La variante más formal puede desarrollarse por medio de talleres grupales, al estimular el intercambio entre sus miembros sobre eventos pasados [6]. Posibilita, además, la activación de la atención y el aumento del lapso de tiempo de concentración de esta en pacientes con demencia. El terapeuta puede apoyarse de instrumentos como fotografías, videos, objetos y diarios personales, música, entre otros. Permite la estimulación no solo cognitiva, sino además funcional y social [7]. Una ayuda cognitiva particular para este procedimiento terapéutico que destaca en la sociedad española es el fútbol [8]. El deporte está profundamente arraigado en la cultura española y ciertamente no sería extraño decir que existe

en la memoria personal y colectiva de la población española. La Federación Española de Futbolistas Veteranos está interesada en implementar el fútbol como herramienta en la terapia de reminiscencia. Si bien el envejecimiento no es la causa de las demencias, no es menos cierto que es uno de los factores de riesgo más importantes, según los datos arrojados por la Organización Mundial de la Salud [9]. La prevalencia de las demencias aumenta de forma exponencial entre los 65 y los 85 años, y se multiplica por dos cada cinco años, alcanzando un 20% en los mayores de 80 años y un 25% en los mayores de 85 años [10].

Para el análisis de la terapia de reminiscencia en este estudio se utiliza *Machine Learning* que es una rama de la inteligencia artificial, cuyo objetivo es desarrollar técnicas que permitan a los ordenadores “aprender” a clasificar, creando algoritmos capaces de generalizar datos a partir de una información no estructurada en forma de muestras. Requiere la intervención humana para indicar a qué grupo pertenece cada muestra [11].

La estructura del artículo es la siguiente: en primer lugar se presenta el material y participantes y experimento. En segundo lugar se muestran los resultados del análisis de dos grupos indicando las variables que han mejorado con la terapia y sus correlaciones. Finalmente se presentan las conclusiones.

2. Material

2.1 Participantes

La metodología aplicada en este estudio es cuantitativa se utiliza correlación basada en técnicas de inteligencia artificial como machine learning [11]. La muestra utilizada fue de $n = 22$ pacientes. Sin embargo, ya que los datos originales contaban con 33 pacientes, se usaron las técnicas de inclusión y exclusión de los participantes, debido a la naturaleza frágil de los pacientes, 4 tuvieron que discontinuar la terapia debido a traslado de residencia. Adicionalmente, no existían datos para 7 pacientes que pertenecían a otra residencia.

2.2 Experimento

Se dispone de las siguientes 10 características con datos Pre y Post intervención: MEC, TMT.A, TMT.B, GDS,

NPI.Gravedad, NPI.Estrés, Cornell, Barthel, Comunicación y Calidad de vida.

Se han manejado dos métodos diferentes: la librería Scikit-learn [12] y el software WEKA [13]. Se han utilizado los siguientes métodos de la librería Scikit-learn, aplicándolos a una selección de datos de entrada recogidos de los tests:

- GradientBoostingClassifier
- LinearSVC
- SelectKBest
- RandomForestClassifier
- RFECV
- ExtraTreesClassifier

Similarmente, se han utilizado los siguientes métodos de selección de características implementados en WEKA:

- CfsSubsetEval
- CorrelationAttributeEval
- GainRatioAttributeEval InfoGainAttributeEval
- OneRAttributeEval
- ReliefFAttributeEval
- SymmetricalUncertAttributeEval

3. Resultados

En el experimento las características estudiadas con datos Pre y Post intervención son las siguientes: MEC, TMT.A, GDS, Barthel, Comunicación y Calidad de Vida. Se han separado los datos en dos grupos: los pertenecientes a Pre-intervención y los pertenecientes a Post-intervención, y comparado ambos grupos con las técnicas de selección indicadas anteriormente. Los resultados se muestran a continuación (ver tabla 1):

Método de selección	Características Significativas
SelectKBest	TMT.A Comunicación
RFECV (γ=2)	GDS Comunicación Calidad de vida
LinearSVC	TMT.A
GradientBoostingClassifier	MEC Comunicación Calidad de vida
RandomForestClassifier	Comunicación Calidad de vida
ExtraTreesClassifier	Comunicación Calidad de vida

Tabla 1. Selección de características del experimento mediante Scikit-learn [14]

En la siguiente figura se muestra el factor de reducción de características totales del experimento, categorizadas por un método de selección previamente presentado (ver figura 2).

Método de selección	Características totales	Nº Características seleccionadas	Reducción (%)
GradientBoostingClassifier	6	3	50
RandomForestClassifier	6	2	66.66
ExtraTreesClassifier	6	2	66.66
SelectKBest	6	2 (predefinido)	66.66 (predefinido)
LinearSVC	6	1	83.33
RFECV	6	3	50

Tabla 2. Factor de reducción de características del experimento con Scikit-learn [15]

Una vez analizados los datos mediante cada método de selección, se ha utilizado un comité de selección de características con el fin de hallar las variables que han cambiado más significativamente después de la terapia. La tabla 3 muestra los resultados de dicho comité.

Característica	Frecuencia (máx=6)	Porcentaje
Comunicación	5	83.33%
Calidad de vida	4	66.66%
TMT.A	2	33.33%
MEC	1	16.66%
GDS	0	0
Barthel	0	0

Tabla 3. Características seleccionadas en el comité de selección de Scikit-learn

Los resultados del comité de selección de Scikit-learn (ver tabla 1) muestran que la variable Comunicación es seleccionada en 5 de los 6 métodos de selección de características significativas, la Calidad de vida en 4 de los 6 métodos, y así sucesivamente. Esto nos indica que las dos variables más significativas que permiten diferenciar entre el grupo Pre y el grupo Post terapia son la Comunicación y la Calidad de vida, seguidos por el test TMT.A

A continuación se presentan los resultados del estudio acorde al análisis mediante el software WEKA[13]. Los métodos de WEKA ofrecen el ranking de las características, presentándolas de mayor a menor significancia, sin eliminar ninguna de la lista.

Método de selección	Características Significativas
CfsSubsetEval	MEC
CorrelationAttributeEval	GDS Comunicación TMT.A MEC Calidad de vida Barthell
GainRatioAttributeEval	Calidad de vida Comunicación TMT.A GDS Barthell MEC
InfoGainAttributeEval	Calidad de vida Comunicación TMT.A GDS Barthell MEC
OneRAttributeEval	Comunicación Calidad de vida GDS MEC TMT.A Barthell
ReliefAttributeEval	Calidad de vida Comunicación MEC GDS TMT.A Barthell
SymmetricalUncertAttributeEval	Calidad de vida Comunicación TMT.A GDS Barthell MEC

Tabla 4. Selección de características del estudio 1 mediante WEKA [16]

Las dos variables más significativas que han cambiado al utilizar el software WEKA después de la terapia son Comunicación y Calidad de Vida, seguidos por el test TMT.A

4. Conclusión

Realizando las técnicas de análisis se observa que en las variables comunicación y calidad de vida ha mejorado tras la terapia, aunque no se puede demostrar una mejora estadísticamente significativa. En relación a la comunicación el 52% de los pacientes mejoraron sus resultados, y se notó una leve mejora en la media grupal. Los pacientes con $MEC > 23$ que han mejorado en relación a la comunicación son los que tenían un valor de esta superior a la media. El análisis de inteligencia artificial muestra que la comunicación es la variable que más ha cambiado significativamente tras la terapia. Respecto a la calidad de vida, el 52% de los pacientes mejoraron sus resultados, y el rango intercuartílico se redujo a favor de mayores valores de Calidad de vida tras la terapia. El valor mínimo también aumentó de 17 a 22 para aquellos usuarios con $MEC > 23$. El análisis de inteligencia artificial muestra que la Calidad de vida es la segunda variable que más ha cambiado significativamente tras la terapia.

El análisis basado en inteligencia artificial muestra que las dos variables cualitativas más significativas que han cambiado después de la terapia son la mejora en el estado de ánimo y la atención.

Por lo anterior se demuestra que la investigación indica que con el uso de la inteligencia artificial para la terapia de reminiscencia es posible observar mejoras en el estado de salud de los pacientes.

Agradecimientos

Se reconoce a Asociación de Futbolistas Españoles (AFE); Diputación Foral de Bizkaia (BFA-DFB) e Instituto Foral de Asistencia Social (IFAS); Centros Benito Menni Hermanas Hospitalarias; Grupo BALLE SOL Centros Residenciales 3ª Edad; FEAFV y sus 60 asociaciones miembro por su contribución en este estudio realizado. Así mismo se agradece la participación del grupo reconocido eVida IT-905-168 de la Universidad de Deusto.

Referencias

- [1]. FEAFV. ESTRENO DEL TALLER DE FÚTBOL EN EL CENTRO DE DÍA AITA MENNI DE ARRASATE CON LOS VETERANOS DE LA REAL [Internet]. [citado 15 de septiembre de 2017]. Disponible en: <http://www.futbolistasfeafv.com/sin-categoria/estreno-del-taller-de-futbol-en-el-centro-de-dia-aita-menni-de-arrasate-con-los-veteranos-de-la-real/>
- [2]. Ayarza A., Torres J., Sesión inaugural del taller de reminiscencia FEAFV-AFE en Valladolid [Internet]. 2016; Valladolid. Disponible en: <http://www.futbolistasfeafv.com/sin-categoria/sesion-inaugural-del-taller-de-reminiscencia-feafv-afe-en-valladolid/>

- [3]. FEAFV. Talleres de Reminiscencia [Internet]. 2016. Disponible en: <http://www.futbolistasfeafv.com/sin-categoria/san-mames-se-inunda-de-emocion-y-recuerdos/>
- [4]. Tulving, E, Pearlstone, Z. Availability versus accessibility of information in memory for words. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior*. 1966;5:381-91.
- [5]. Martínez R. T. Estimulación cognitiva: Guía y material para la intervención. Oviedo: Consejería de Asuntos Sociales; 2002.
- [6]. Cotelli M, Manenti R, Zanetti O. Reminiscence therapy in dementia: a review. *72*. 2015;203.
- [7]. Francés I, Marcellán T, Barandiarán M, Moreno L. Estimulación psicocognoscitiva en las demencias. 2003 [Internet]. 13 de septiembre de 2017;26(3). Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272003000500007
- [8]. Abellán A PR. Un perfil de las personas mayores en España. Envejecimiento en Red [Internet]. 2013. Disponible en: <http://envejecimiento.csic.es/documentos/documentos/enredindicadoresbasicos13.pdf>. [15.07.2013]. Puyol R
- [9]. World Health Organization. Dementia: a public health priority. Washington DC. WHO; 2012.
- [10]. Batsch N, Mittelman M. World Alzheimer Report 2012. Overcoming the stigma of dementia. London: Alzheimer's Disease International; 2012.
- [11]. Arel, I., Rose, D. C., Karnowski, T. P. Deep machine learning-a new frontier in artificial intelligence research [research frontier]. *IEEE*. 2010;5(4):13-8.
- [12]. Raschka, S. Python Machine Learning. 2da ed. Vol. 1. 2017.
- [13]. WEKA [Internet]. New Zealand: Machine Learning Group at the University of Waikato; Disponible en: <http://www.cs.waikato.ac.nz/ml/weka/>
- [14]. Bowles Michael. Machine Learning in Python: Essential Techniques for Predictive Analysis. John Wiley & Sons, Inc.
- [15]. Witten I.H, Frank E, Hall M,, Pal C. J.. Data Mining: practical Machine Learning Tools and Techniques. 4ta ed. ELSEVIER; 2017. 532 p.
- [16]. Frank E, Hall M, Holmes G, Kirkby R., Pfahringer B.. Weka-A Machine Learning Workbench for Data Mining. En: Data Mining and Knowledge Discovery Handbook. Springer, Boston, MA. 2009.

Sistema de respuesta vocal interactiva para el acceso a una plataforma de asistencia remota a pacientes nefrológicos

D. Garduño Navarro, L.M. Roa Romero^{1,2}, I. Román Martínez^{2,3}, J. Calvillo Arbizu^{1,2}

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Sevilla, {jcalvillo, lroa}@us.es

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

³ Dpto. Ingeniería Telemática, Universidad de Sevilla, isabel@trajano.us.es

Resumen

En este artículo se muestra el trabajo realizado para desarrollar una interfaz de acceso a eNefro, una plataforma de asistencia remota a pacientes con Enfermedad Renal Crónica. Dicha interfaz requiere únicamente de un acceso básico de telefonía y un terminal telefónico elemental. Esta económica vía de acceso alternativa aumenta la penetrabilidad del servicio, poniéndolo a disposición de un mayor número de pacientes; con diversidad funcional y/o en localizaciones geográficas de difícil acceso.

1. Introducción

Más de 70 millones de personas en todo el mundo tienen enfermedad renal crónica (ERC) y de acuerdo a las estimaciones esta prevalencia aumentará aún más, y por tanto también la necesidad de recursos para la atención a la ERC [1]. En España se estima que hay 25.000 personas con enfermedad renal crónica que están en tratamiento de diálisis. De ellas, un 15% reciben la diálisis en sus domicilios a través de la diálisis peritoneal (DP). Los pacientes que reciben este tratamiento tienen que realizar la medición de una serie de parámetros fisiológicos (peso, temperatura, tensión arterial...), y deben anotar diariamente todos estos valores para comunicárselos a su médico en las revisiones en consulta [2].

El proyecto eNefro es un esfuerzo multicéntrico entre la Universidad de Sevilla y diversos hospitales nacionales con el objetivo de desarrollar una plataforma para facilitar asistencia remota a pacientes en pre-diálisis y DP. La plataforma les permite, entre otras cosas, introducir vía web estos parámetros para que estén disponibles en el sistema inmediatamente y puedan ser consultados por los profesionales que le atienden. Por otro lado es una vía de consulta e información al paciente.

Pensando en un despliegue real del sistema es imprescindible dar cobertura a todo tipo de pacientes; sin importar su localización geográfica, nivel económico, conocimientos en nuevas tecnologías o capacidades físicas.

Las interfaces Paciente-Plataforma juegan un papel esencial en este aspecto. Los requisitos técnicos, económicos y de capacidades físicas que éstas imponen resultan determinantes para el éxito de las soluciones. Así la diversidad de perfiles de pacientes obliga a diversificar también las interfaces disponibles.

Para aquellos pacientes que no disponen de un acceso a internet, no se sienten confiados con su uso o simplemente no están capacitados para ello, la interfaz web resulta inapropiada. Es necesario ofrecer un método de acceso

alternativo, que además tenga un coste reducido, a fin de evitar la discriminación por falta de recursos económicos y asegurar la sostenibilidad dentro del sistema sanitario.

Actualmente el 99,1% de los hogares españoles dispone de teléfono (fijo o móvil) [3] y el servicio de telefonía básica es un servicio amparado en la ley de servicio universal que garantiza la prestación del servicio a todos los usuarios que lo soliciten, independientemente de su localización geográfica, con una calidad especificada y a un precio asequible e incluyendo algunas medidas específicas para usuarios con discapacidad.

Esta gran cobertura junto con el coste asequible del servicio y del terminal (que podría incluso alquilarse al proveedor con un coste reducido) garantiza la no exclusión de pacientes por sus recursos económicos o su ubicación geográfica y convierte al servicio de telefonía en una excelente alternativa para el acceso inclusivo a aplicaciones sanitarias.

En este trabajo se presenta el diseño e implementación de eNefro-Asterix, que ofrece un acceso alternativo a la plataforma eNefro sobre el servicio de telefonía. El proyecto incluye una centralita telefónica virtual de software libre que implementa un sistema de Respuesta Vocal Interactiva (Interactive Voice Response, IVR) encargado de interactuar con el usuario. La aplicación guía al paciente en los procesos de introducción, envío y almacenamiento de datos (variables fisiológicas o síntomas) y está diseñado para garantizar la accesibilidad a usuarios con limitaciones físicas sensoriales y/o cognitivas.

2. Tecnologías utilizadas

2.1. Interactive Voice Response (IVR)

El acceso sobre el servicio de telefonía se ha resuelto mediante el uso de un sistema IVR. En estos sistemas una aplicación software interactúa con una persona llamante a través de la línea telefónica. Presenta locuciones pregrabadas o dinámicamente generadas y acepta entradas de datos mediante los tonos generados al pulsar las teclas del teléfono o a través de órdenes de voz del propio usuario llamante [4].

El ahorro potencial que proporciona un sistema IVR es de muy rápido retorno sobre la inversión. Permite prescindir de un operador humano, aumenta la disponibilidad horaria, permite atender varios usuarios simultáneamente y puede ser personalizado, para ofrecer una atención ajustada a las necesidades y capacidades del paciente (capacidad

cognitiva, capacidad auditiva, velocidad de reacción a las órdenes, movilidad, etc.).

La creación de un sistema IVR es un trabajo de cierta complejidad que necesita la unión de tareas propias de una centralita telefónica (recepción y gestión de llamadas, enrutamiento, etc.), un operador (interacción con el llamante, recepción de peticiones, ejecución de pedidos, atención al usuario) y un centro de datos (recepción de datos, almacenamiento, comunicación con base de datos...). Así la creación y puesta en marcha de un sistema IVR requiere el uso de varias tecnologías que interactúan. Afortunadamente existe en el mercado una solución de software libre capaz de cubrir estos requisitos: Asterisk.

Asterisk es un entorno de trabajo que se puede utilizar para implementar una centralita telefónica virtual, un distribuidor de llamadas, una pasarela VoIP, un puente para conferencias o un sistema IVR. Abstrae la complejidad de los protocolos y tecnologías de comunicación, permitiendo al desarrollador concentrarse en la creación de productos y soluciones innovadoras [5,6].

Asterisk es gratuito, no hay derechos de licencia por puertos o por llamada concurrente. Se ejecuta en hardware básico y utiliza interfaces de Red Telefónica Conmutada de bajo coste. Otro de los beneficios de Asterisk es la naturaleza abierta de la plataforma, el código fuente está disponible y se puede personalizar para ajustarse a requisitos del escenario. Este ha sido el software utilizado para crear la centralita telefónica virtual y el sistema IVR, en su versión 1.8.32.2.

A partir de la versión 1.8 se incluye la funcionalidad de integración de calendarios según distintos formatos. Integrar Asterisk con un calendario permite utilizar los eventos registrados en el mismo para diversas tareas como decidir el enrutamiento de las llamadas o iniciarlas en el momento oportuno. En el proyecto se ha utilizado el servidor para uso compartido de calendarios DAViCal [7]. En las pruebas del sistema como cliente de calendarios, para su gestión por el profesional sanitario, se ha utilizado Thunderbird [8].

El envío de datos de usuario al IVR se puede apoyar en los tonos generados al presionar las teclas del teléfono o en órdenes de voz, utilizando software de reconocimiento de voz en el servidor. Éste último procedimiento es más complejo e incrementa sustancialmente el coste del sistema, por lo que no se utiliza en la solución aquí presentada.

2.2. Text-to-Speech (TTS)

Las locuciones usadas en el sistema IVR, que servirán para comunicarse con el usuario llamante (el paciente), han sido generadas usando la tecnología TTS (Text-to-Speech o Texto-a-Voz). Un proceso por el cual un ordenador convierte una representación de texto escrito en una voz sintética, construida normalmente a partir de fragmentos de voz humana grabada y modelada computacionalmente [4]. Existen numerosas alternativas de TTS entre las que se pueden elegir soluciones de software libre o propietario, y de uso gratuito o con coste.

Para el desarrollo de este proyecto se probaron varias soluciones gratuitas. La que mejores resultados dio, para la calidad de la voz en español, fue la alternativa de Google (Google TTS, a través de Google Translate) y éste ha sido el servicio elegido como motor TTS. Además ha sido necesario realizar transformaciones del formato de los archivos de audio generados, para lo que se ha utilizado SoX, Sound eXchange, [9] herramienta multiplataforma en línea de comandos que puede convertir varios formatos de archivos de audio a otros formatos.

Softphones Zoiper (versión 3.3.25608) y Twinkle (versión 3.3.8b) han sido utilizados para comprobar el funcionamiento del sistema eNefro-Asterisk con llamadas VoIP.

3. Método

La consecución de los objetivos marcados en el proyecto ha exigido la toma de requisitos del paciente, el estudio de las soluciones tecnológicas, el análisis de normativa relacionada con las TIC aplicadas al ámbito de la salud y una etapa final de desarrollo y pruebas.

En cuanto a los requisitos funcionales básicos se partía de la experiencia anterior, pero se incluyen nuevos requisitos relacionados con la interfaz de acceso. Además de las restricciones impuestas por el uso del servicio telefónico se han analizado las necesidades especiales de pacientes mayores, o con diversidad funcional, que pueden encontrar dificultades a la hora de utilizar el sistema a través del teléfono. Entre estas limitaciones se pueden citar el nivel de audición, la velocidad de reacción a las órdenes de guiado o las posibles dificultades en el manejo del teclado físico del terminal telefónico para introducir los datos.

En la fase de análisis y selección de soluciones tecnológicas disponibles se ha apostado por soluciones de software libre y una tarjeta telefónica analógica para computadora (TDM410 de Digium), compatible con el software elegido, para la conexión a la red telefónica.

Posteriormente se analizó la normativa existente en cuanto a la accesibilidad a aplicaciones y servicios en el ámbito de la salud, haciendo énfasis en los aspectos relacionados con sistemas y dispositivos para los grupos de tercera edad y con diversidad funcional, además de a las directrices sobre la personalización de aplicaciones. Estas normas [10-14] han sido consideradas en el diseño de la solución.

4. Resultados

Las principales capacidades ofrecidas a través del acceso desarrollado son:

- Proporcionar un mecanismo para que el paciente introduzca en el sistema los valores de las variables fisiológicas y los síntomas de interés.
- Almacenar los datos en la base de datos de la plataforma y por tanto integrarlos, y asimilarlos, con los obtenidos a través de otras vías de acceso.
- Proporcionar un mecanismo de gestión de alarmas con 3 niveles de prioridad que actúa en caso de que alguno de los síntomas o valores fisiológicos exceda el rango normal. Las actuaciones dependerán de la

prioridad de la alarma y van desde un simple mensaje de aviso hasta el establecimiento inmediato de una llamada con los profesionales sanitarios.

- Proporcionar un mecanismo de gestión de mensajes recordatorios o citas. El personal sanitario puede crear eventos en un calendario y estos serán enviados al paciente en forma de mensaje de voz, a través de llamada telefónica, cuando se alcance la fecha para la que fueron programados.
- Proporcionar un mecanismo que permite a los facultativos controlar su disponibilidad, permitiendo o bloqueando la recepción de llamadas.

Toda la aplicación ha sido desarrollada siguiendo la normativa existente con el fin de alcanzar el mayor grado de accesibilidad y usabilidad. La interfaz del paciente es únicamente a través del servicio telefónico, y la interacción es a través de la voz /audio o usando el teclado básico del terminal. El sistema es compatible con llamadas VoIP.

4.1. Autenticación del paciente y personalización de la aplicación

La autenticación del usuario se realiza mediante la tupla USUARIO-PIN que el paciente debe introducir para acceder al sistema. El USUARIO es el número de teléfono del paciente, el PIN un número de 4 dígitos que pueden ser modificados a través del menú opciones. En una llamada el paciente tiene 3 intentos para introducir el USUARIO y 3 para el PIN. Si se exceden se da fin a la llamada.

La primera vez que se accede al sistema el paciente debe configurar sus opciones de usuario: velocidad de reproducción de locuciones, volumen de audio y PIN de acceso. En posteriores accesos el paciente tiene disponible en el menú principal la opción de personalización. En esta opción se accede a un menú secundario donde es posible elegir si quiere reconfigurar PIN, velocidad o volumen o

bien si desea restablecer los valores por defecto de todos los parámetros (fuerza que la próxima vez que acceda el usuario tenga que realizar de nuevo la configuración inicial) o volver al menú principal.

4.2. Introducción de variables fisiológicas y síntomas.

Al elegir desde el menú principal esta opción se consulta la configuración del paciente, realizada por su médico, que indica las variables fisiológicas que debe introducir. De este modo la locución que solicita al paciente la introducción de datos a través del teclado telefónico está personalizada a los requisitos de cada paciente. eNefro-Asterisk monitoriza los valores introducidos para controlar que estén dentro de un rango seguro para la salud del paciente. En caso de no estarlo primero se solicita al paciente que confirme si el valor es correcto. Si efectivamente se confirma un valor peligroso se registra una alarma o incidencia, que puede tener tres niveles de prioridad. Una vez registrados los parámetros introducidos en la base de datos se inician las acciones requeridas por las alarmas generadas, según su prioridad:

- Baja: se transmite una locución al paciente para que hable con su médico en la próxima revisión acerca del síntoma o variable que ha generado la alarma.
- Media: la gestión depende del horario del médico (según programación en el calendario). Si está disponible cuando el paciente genera la incidencia, el sistema desvía la llamada a su localización. Si no lo está se envía una locución instando al paciente a comunicarse con su médico en horario de consulta.
- Alta: requieren la comunicación inmediata entre el paciente y el doctor. Se redirige la llamada a la consulta o al número alternativo.

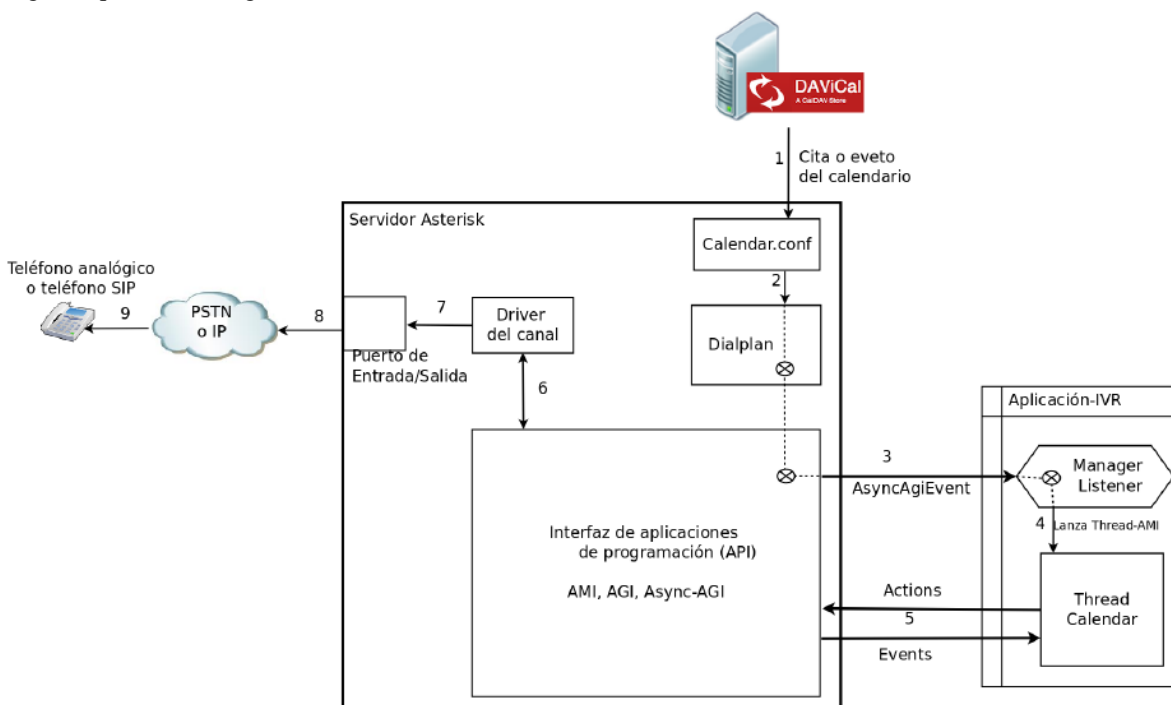


Figura 1. Arquitectura y mensajes para una llamada generada a partir de un evento del calendario

4.3. Notificaciones al paciente

El sistema envía mensajes de audio automáticamente a los pacientes (recordatorio de citas, medicamentos o mensajes en general) según eventos programados en un calendario. Como muestra la *Figura 1* cada vez que se dispara una alarma en un calendario integrado se notifica un evento a Asterisk. A partir de la información incluida en la notificación se puede acceder a los datos registrados y así se recupera el contenido del mensaje y los datos del paciente al que va dirigido, procediéndose entonces a la creación del archivo de audio utilizando TTS.

Tras la generación de la locución se modifican sus parámetros de velocidad de la reproducción y volumen de acuerdo a las opciones de usuario del paciente. Una vez se tiene el archivo de audio final se realiza la llamada al paciente y cuando éste responde se reproduce la locución. En caso de que el paciente no responda se repite la llamada 3 veces, con intervalo de espera de 10 minutos entre intentos.

Para el servicio de calendario ha sido necesario desplegar el servidor DAViCal que se apoya en una base de datos PostgreSQL, también se ha desplegado un servidor Apache2 y se han instalado los componentes necesarios para ejecutar scripts PHP.

El método utilizado para obtener las locuciones ha sido realizar las peticiones al servicio de Google Translate mediante un script y almacenar el audio en el equipo que aloja Asterisk para acceder después a ellos localmente.

Para la codificación del IVR Asterisk se ha utilizado la librería Asterisk-Java que permite la comunicación con un servidor Asterisk basada en Async-AGI.

5. Conclusiones

Los pacientes de mayor edad se muestran reacios a usar aplicaciones móviles y web de eSalud, principalmente por las dificultades que encuentran al utilizar las nuevas tecnologías debido al deterioro de la visión, el oído, la movilidad y la cognición asociados al envejecimiento. Estos pacientes están mucho más familiarizados con el manejo de terminales telefónicos tradicionales que con el uso de smartphones, tablets o PC's. Por otro lado la penetración del acceso de telefonía básico es casi del 100% y su coste es sensiblemente inferior a los accesos necesarios para el consumo de servicios vía web (normalmente ADSL o fibra). De este modo la interfaz diseñada en este trabajo es una excelente alternativa de acceso a la plataforma eNefro para garantizar las necesidades de inclusión, accesibilidad y bajo coste requeridas.

Este nuevo acceso se ha desarrollado como una alternativa, la web previamente disponible puede seguir utilizándose y el paciente elige la forma de acceso en cada momento. Aún no ha sido validado con pacientes reales ya que en la primera fase se está utilizando únicamente la interfaz web.

El sistema se ha desarrollado utilizando únicamente software gratuito, algunas de las prestaciones podrían

mejorarse sustituyendo componentes por otras soluciones más avanzadas y de mayor coste. En este sentido convendría comenzar por desligarse del servicio de Google Translate para el sistema TTS y utilizar otro más eficiente y confiable como Verbio [15].

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el CIBER-BBN, el Grupo de Ingeniería Biomédica de la Universidad de Sevilla y el Proyecto DTS15/00195 del Fondo de Investigación Sanitaria. CIBER-BBN es una iniciativa fundada por el VI Plan Nacional de I+D+i 2008-2011, la Iniciativa Ingenio 2010, el Programa Consolider, Acciones CIBER y financiado por el Instituto de Salud Carlos III con ayuda del Fondo de Desarrollo Regional Europeo.

Referencias

- [1] Diamantidis CJ, Becker S. Health information technology (IT) to improve the care of patients with chronic kidney disease (ckd). *BMC Nephrology*, vol. 15, 2014.
- [2] Proyecciones de población a corto plazo 2013-2023», Instituto Nacional de Estadística. 2013. <http://www.ine.es/jaxi/menu.do?type=pcaxis&path=/t20/p269/&file=inebase> (Consultada: Septiembre 2017)
- [3] Encuesta sobre equipamiento y uso de tecnologías de información y comunicación en los hogares. Instituto Nacional de Estadística, <http://www.ine.es/prensa/np864.pdf>
- [4] EN ISO 9241-154:2013, Ergonomía de la interacción hombre-sistema. parte 154: Aplicaciones de respuesta vocal interactiva (RVI)
- [5] Página web de Asterisk: <http://www.asterisk.org/> (Consultada: septiembre 2017)
- [6] Madsen L, Van Meggelen J, Bryant R. Asterisk: The definitive guide, 4th edition. O'Reilly Media Mayo 2013
- [7] Página web de DaviCal: <https://www.davical.org/> (Consultada: Septiembre 2017)
- [8] Página web de ThunderBird: <https://www.mozilla.org/es-ES/thunderbird/> (Consultada: septiembre 2017)
- [9] Página web de Sox -Sound eXchange: <http://sox.sourceforge.net/> (Consultada: septiembre 2017)
- [10] ETSI EG 202 116 V1.2.2, Human factors (HF); guidelines for ict products and services; design for all, 2009.
- [11] UIT-T E.161, Serie E: Explotación general de la red, servicio telefónico. Explotación del servicio y factores humanos..., 2001.
- [12] UNE 139802, Requisitos de accesibilidad del software, AENOR, 2009.
- [13] UNE-EN ISO 9241-129, Ergonomía de la interacción persona-sistema. Parte 129: Directrices sobre la individualización de software, 2011.
- [14] UNE-EN ISO 9241-20, Ergonomía de la interacción persona-sistema. Parte 20: Pautas de accesibilidad para equipo y servicios de tecnologías de información/comunicación (TIC), 2009.
- [15] Página web de Verbio: <http://verbio.com/> (Consultada septiembre 2017)

Proyecto PREDIRCAM 2. Análisis preliminar de uso y valoración de la plataforma.

J. Tapia¹, J.M. Iniesta¹, V. Alcántara-Aragón², S. Rodrigo-Cano^{4,5}, A. Lupiañez², M.J. Martínez², C. Martínez², C. Pérez-Gandía^{1,3}, G. García-Sáez¹, S. Tenés^{4,5}, J.F. Merino-Torres^{4,5}, C. González^{2,3}, M. Elena Hernando^{1,3}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, España

{jtapia, jminiesta, cperez, ggarcia, elena}@gbt.tfo.upm.es

² Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona, España

{valcantara, alupianez, mmartinezr, mmartinezme, cgonzalezb}@santpau.cat

³ Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), España

⁴ Servicio de Endocrinología y Nutrición, Hospital de La Fe-Universitat de Valencia, España

⁵ Unidad Mixta de Investigación Endocrinología, Nutrición y Dietética. Instituto Investigación Sanitaria La Fe-Universitat de Valencia, España

{rocasu}@alumni.uv.es, {tenes_sus}@gva.es

Resumen

En la actualidad, la prevalencia de las enfermedades no transmisibles (Non-communicable diseases NCD) y la cantidad de muertes causadas por éstas es muy elevada, en su mayoría, consecuencia del envejecimiento de la población, el aumento de la obesidad y los hábitos de vida sedentarios. En este trabajo se describen el funcionamiento y los resultados preliminares del proyecto Predircam 2, destinado al desarrollo y validación de una plataforma inteligente de tecnologías biomédicas para la monitorización, prevención y tratamiento personalizados del sobrepeso, la obesidad y la prevención de enfermedades asociadas como la diabetes, hipertensión arterial o alteraciones del metabolismo lipídico. El objetivo de este trabajo es presentar los resultados preliminares del análisis del uso de la plataforma, la evaluación de la usabilidad y la valoración de la atención recibida por los pacientes en relación a los profesionales sanitarios.

1. Introducción

1.1. Antecedentes

La existencia de una agrupación no casual de factores de riesgo de origen metabólico, propiciados por el envejecimiento de la población, el aumento de la obesidad y la proliferación de estilos de vida sedentarios, aumenta en quienes la sufren, la probabilidad de padecer diabetes tipo 2 u otras enfermedades metabólicas que incrementan el riesgo de enfermedades cardiovasculares (ECV). La presencia en una misma persona de obesidad y diferentes factores de riesgo cardiovascular dio lugar a la definición de síndrome metabólico (SM), condición en la que el riesgo de ECV se ve aumentado respecto a la suma de cada uno de estos factores de riesgo por separado [1].

Diferentes estudios han demostrado que este síndrome duplica en quien lo sufre el riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular y multiplica por cinco la probabilidad de desarrollar diabetes. Esta tendencia tan negativa viene motivada principalmente por la adopción

generalizada de diferentes costumbres características del estilo de vida moderno [2].

En España la prevalencia de SM es del 31% y predomina en varones hasta los 55 años y en las mujeres a partir de los 65. Las personas con SM tienen un riesgo coronario mayor que la población sin SM (varones, 4%; mujeres, 2%) [3].

En 2015 las ECV tuvieron un coste directo cercano a los 111.000 millones € para los sistemas sanitarios de la Unión Europea. Pero, además, si se consideran los costes secundarios derivados de la pérdida de productividad, la cifra alcanza los 210.000 millones € [4].

Todos estos hechos se han visto inmersos en un periodo de avances tecnológicos, de una convergencia en el sector de las telecomunicaciones y la consecuente digitalización global, otorgando hoy en día a las Tecnologías de la Información y las Comunicaciones (TIC) un papel muy relevante en los diferentes ámbitos de la sociedad.

1.2. Proyecto Predircam 2

En este contexto se planteó y desarrolló el proyecto Predircam 2, destinado a la monitorización, prevención y tratamiento personalizados del sobrepeso, la obesidad y la prevención de enfermedades asociadas mediante un seguimiento del registro de las variables corporales, la alimentación y la actividad física, fomentando la motivación y la adherencia hacia estilos de vida saludables a través del uso de la tecnología.

La plataforma tecnológica fue validada a través de una prueba piloto que se llevó a cabo con 30 voluntarios con edades comprendidas entre 25 y 72 años y un grado medio de habilidades informáticas. Los resultados satisfactorios permitieron que en Noviembre del 2015 comenzara el estudio clínico del proyecto, el cual pretende valorar que la integración de una Plataforma Inteligente de Tecnologías Biomédicas dentro de un programa intensivo de tratamiento de la obesidad es al menos igual de eficaz que

un programa de asistencia presencial, y con una mejor relación coste-efectividad [5].

Este estudio clínico se encuentra en su última fase, previéndose su finalización en Enero del 2018. Ha sido realizado por profesionales sanitarios de dos hospitales: Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (Barcelona) y Hospital Universitari i Politècnic La Fe (Valencia).

El reclutamiento incluyó 183 pacientes con edades comprendidas entre 18 y 65 años con obesidad (Grado I o II). Estos realizan un total de 12 visitas en 48 semanas, en las que se interviene sobre los estilos de vida (dieta y ejercicio) de manera intensificada con o sin ayuda de la tecnología según se le haya asignado de forma aleatoria al grupo de intervención tecnológico (T) o al grupo de control o no tecnológico (NT). Para el grupo T, 4 de las visitas son únicamente telemáticas a través de la plataforma.

A lo largo del estudio los pacientes cumplimentan una serie de cuestionarios de salud, de nutrición y actividad física, y de motivación al cambio, y el grupo intervención además otro de satisfacción con la plataforma al finalizar el estudio.

En este trabajo se presentan los resultados del análisis del uso de la plataforma por parte del grupo T, junto con la evaluación de la usabilidad de aquellos pacientes que han finalizado el estudio clínico. También se incluye una comparativa sobre la valoración de la atención recibida de los profesionales sanitarios, tanto desde la perspectiva del grupo T como del NT.

2. Materiales y métodos

2.1. Plataforma tecnológica

En la Figura 1 puede verse un esquema de la arquitectura de la plataforma Predircam 2 junto con los agentes intervinientes.

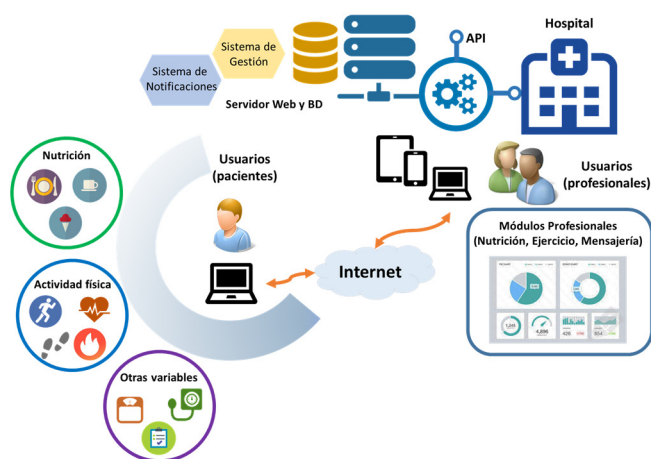


Figura 1. Plataforma Predircam 2

La plataforma consta de dos perfiles de acceso, el profesional y el paciente. El perfil profesional (médico endocrinólogo, dietista-nutricionista o enfermera) puede registrar variables clínicas en las visitas de los pacientes y realizar la valoración del seguimiento de estos por medio de reportes generados de forma periódica y automática que incluyen información de la dieta, actividad física, y cumplimiento de objetivos. Por otro lado, el perfil paciente

puede acceder a la plataforma a través de una aplicación Web que le permite llevar un autoseguimiento de la alimentación y la actividad física realizada, así como también introducir parámetros corporales tales como el peso, las medidas de cintura y cadera, el índice de masa corporal (IMC) y el índice cintura-cadera (ICC), los cuales se representan en forma de gráficos en el tiempo.

Ambos perfiles, profesional/paciente, pueden establecer contacto dentro de la plataforma por medio de un escenario de mensajería. Adicionalmente, se ha creado un grupo privado en la red social Facebook donde pueden intercambiar información y experiencias. Así como una biblioteca digital con contenido didáctico e informativo relativo a nutrición y actividad física.

2.2. Análisis de datos registrados en la plataforma

El reclutamiento de pacientes finalizó en Diciembre de 2016, con un total de 91 pacientes en el grupo T y 92 pacientes en el grupo NT. La participación en el proyecto de los pacientes reclutados se ha ejecutado de manera progresiva y escalonada en el tiempo, motivo por el que existen pacientes que han finalizado la intervención y otros que continúan el seguimiento.

En este apartado del trabajo se analizarán algunos datos preliminares de uso de la plataforma por parte del grupo T. Para una correcta interpretación de los datos, se han tenido en cuenta las interacciones de los pacientes con la plataforma en proporción al tiempo que han hecho uso de ella, de forma que fueran comparables los datos de los pacientes que han realizado las 12 visitas y terminado el programa, con aquellos que aún se encuentran en un estado intermedio o decidieron abandonar el estudio.

De los 91 pacientes incluidos en el grupo T, 4 fueron abandonos tempranos antes de llegar a tener contacto con la plataforma, por lo que no han sido considerados para este análisis. Por lo tanto se han utilizado los datos de los 87 pacientes restantes. De estos, actualmente 30 han completado el programa, y los 57 restantes se encuentran en proceso de finalización o han abandonado el estudio.

De estos 87 pacientes, el 14.95% son hombres y el 85.05% mujeres, con una media total de edad de 43.47 ± 9.85 años, siendo la media de 39.38 ± 10.90 años entre los hombres y de 44.18 ± 9.55 años entre las mujeres.

2.3. Evaluación de usabilidad de la plataforma y de la percepción sobre la atención clínica recibida

Para evaluar la usabilidad y la adherencia a la plataforma, se incluyó la realización de un cuestionario por parte de los pacientes T al finalizar el estudio clínico. En este análisis se han empleado los datos de los 30 que han finalizado.

La estructura del cuestionario de usabilidad y sus preguntas están basadas en cuestionarios estándares para la evaluación de la usabilidad de sistemas [6,7]. Las preguntas están organizadas de forma tal que permitan analizar aspectos generales relativos a la utilidad, la facilidad de uso y aprendizaje, calidad de interfaces e interacción, confiabilidad, satisfacción y uso a futuro. Adicionalmente, el cuestionario incluye secciones específicas para valorar componentes y funcionalidades

propios de la plataforma Predircam 2 como son los escenarios de nutrición, actividad física, mensajería, registro del peso corporal y el grupo de Facebook.

De forma similar, la evaluación de la atención clínica percibida por los 66 pacientes (30T y 36 NT) que han finalizado el estudio clínico, se basa en un cuestionario aplicado en atención primaria durante el seguimiento de la pérdida de peso [8].

Para ambos cuestionarios las respuestas emplean una escala Likert con 5 elementos, excepto para algunas preguntas en las que se ha dado opción de incluir texto libre que aporte más información sobre esta valoración.

3. Resultados

3.1. Registros y uso de la plataforma tecnológica

Entre los principales parámetros de cumplimiento de los pacientes del grupo T con la plataforma se encuentran los registros dietéticos y de actividad física. Cada paciente debe registrar al menos 3 días de dieta completa por semana en la plataforma (2 días laborables y 1 día festivo), considerándose completo un registro que contemple las principales ingestas diarias (desayuno, comida y cena). De igual forma se recomienda a los pacientes la realización de actividad física semanal que les permita consumir al menos 750 Kcal (en caso de posibilidad o no contraindicación), con la posibilidad de usar el pulsómetro Polar RS 400.

Teniendo en cuenta todos los registros realizados por los 87 pacientes del grupo T hasta la fecha, y promediados por el número de semanas que cada participante ha utilizado el sistema, pueden presentarse los parámetros de la Tabla 1 referentes a la interacción usuario-plataforma.

	Media semanal/Usuario
Reg. nutricionales completos	3.98 ± 1.78
Reg. actividad manual	2.20 ± 1.72
Reg. actividad Polar RS400	1.43 ± 1.08

Tabla 1. Registros medios semanales por usuario.

Dentro de las actividades físicas realizadas por los pacientes, se ha analizado la diferencia entre las actividades registradas manualmente a través de un listado de actividades regladas y aquellas que se realizan y descargan automáticamente a través del Polar RS400, como puede verse en la Tabla 2. Las actividades registradas con el dispositivo, a priori, permitirían una cuantificación más precisa de las calorías consumidas en base al ritmo cardíaco del usuario.

	Manual	Polar RS400
Minutos/Actividad	68.15 ± 29.04	74.01 ± 28.67
Kcal/Actividad	347.6 ± 168.3	447.3 ± 179.5

Tabla 2. Minutos y Kcal medias por actividad y usuario.

Otro de los parámetros objetivo de este análisis ha sido la interacción entre los profesionales sanitarios y los pacientes a través de la plataforma, con el fin de valorar esta vía de comunicación proporcionada por el sistema, lo que puede verse en la Tabla 3.

	Media/Usuario
Mensajes Prof. Sanitario-Paciente	14,95 ± 8,84
Mensajes Paciente-Prof. Sanitario	8,77 ± 9,51

Tabla 3. Mensajes intercambiados Prof. Sanitario-Paciente.

3.2. Evaluación de usabilidad y percepción sobre la atención clínica recibida

Tal como se ha comentado en el apartado metodológico, el cuestionario utilizado para evaluar la usabilidad de la plataforma incluye secciones con aspectos generales y otros específicos. En cuanto a los primeros, en la Figura 2 se muestra un diagrama de araña con los resultados obtenidos, donde la valoración en cada uno de los aspectos es superior o igual a 4.3 en una escala de 5.

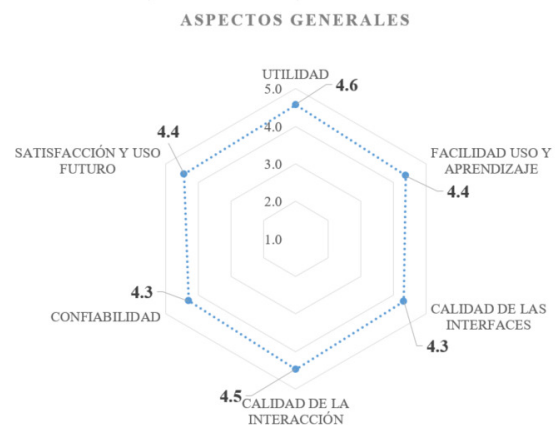


Figura 2. Diagrama con la valoración de aspectos generales

Entre los comentarios, sugerencias e impresiones por parte de los pacientes en relación a los aspectos generales, se ha detectado que las principales carencias o aspectos a mejorar son la ausencia de mecanismos de apoyo psicológico y la posible inclusión de una aplica móvil.

Por otro lado, la Figura 3 muestra un diagrama con los resultados relativos a los aspectos o escenarios específicos de la plataforma, siendo la media obtenida superior o igual a 3.9 en todos los casos.

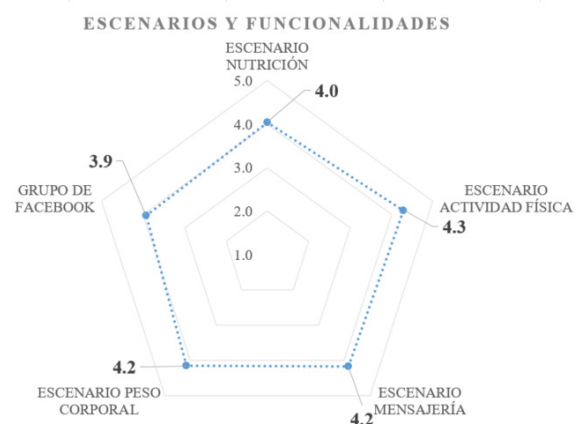


Figura 3. Diagrama con la valoración de aspectos específicos

Las observaciones principales, recogidas mediante preguntas abiertas de texto libre sobre los diferentes módulos, se recogen a continuación:

- Nutrición: incorporación de mejoras en la búsqueda y selección de alimentos, por ejemplo a través de la utilización de un escáner de alimentos, y la posibilidad de crear ingredientes por parte de los usuarios.
- Actividad física: ampliar la gama de dispositivos wearables y reemplazar en la medida de lo posible la utilización de bandas de pulso cardíaco que suelen resultar incómodas.
- Mensajería: optimizar la frecuencia de las notificaciones automáticas recibidas y el grado de personalización.
- Peso corporal: simplificar y optimizar los gráficos de evolución del peso, cintura/cadera e índices IMC e ICC e incorporación de históricos de cintura/cadera.

Finalmente, la comparativa entre la percepción de ambos grupos (T y NT) sobre la atención clínica recibida por parte de los profesionales sanitarios se muestra en la Figura 4.

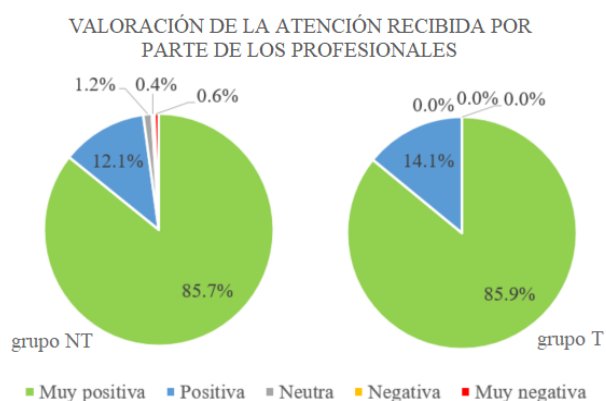


Figura 4. Valoración de la atención clínica percibida

4. Conclusiones

Desde el inicio del proyecto, la plataforma Predircam 2 se perfiló como una potente herramienta de prevención y tratamiento de enfermedades ligadas al sobrepeso y obesidad. El alto grado de desarrollo y consecución del proyecto ha permitido el acceso a una gran cantidad de datos generados por los usuarios en su interacción con el sistema, que permiten valorar el grado de cumplimiento de los pacientes respecto de las pautas marcadas por los profesionales sanitarios.

Por un lado, podemos afirmar que en media, los pacientes del grupo T cumplen con las necesidades de registro nutricional para su correcta valoración posterior. De igual forma, queda constatado que los valores medios en minutos y calorías son superiores en media en el caso de los registros capturados con el Polar RS400.

De acuerdo a los datos presentados, se puede concluir que la plataforma supone una vía de comunicación directa y necesaria entre los profesionales y los pacientes, siendo más utilizada en media por el perfil profesional para contactar con los pacientes. La posibilidad de establecer un nexo de unión entre ambos perfiles se presenta como una funcionalidad de alto valor para la práctica clínica.

Aunque aún quedan usuarios por acabar el estudio clínico, los datos existentes reflejan un alto grado de usabilidad. Del mismo modo, los escenarios y funcionalidades

principales de la plataforma han sido valorados positivamente y la realimentación por parte de los usuarios permitirá priorizar la incorporación de nuevas funcionalidades así como alcances del proyecto. Una de las importantes mejoras que está prevista para próximas versiones de la plataforma es el desarrollo de una aplicación móvil que cuente con conectividad a otros dispositivos de monitorización de actividad física disponibles en el mercado.

En cuanto a la incorporación de apoyo psicológico en la plataforma y en el contexto del protocolo de tratamiento, es algo que se ha ido evidenciado a lo largo del estudio clínico, configurándose como una característica deseable a incorporar en un futuro. Los autores creemos que sería de gran utilidad y sin duda apoyaría al cambio de comportamiento y por tanto redundaría en una mejora de la salud de los pacientes.

Para finalizar cabría destacar el alto grado de satisfacción de la atención clínica percibida por los pacientes por parte de los profesionales sanitarios que trabajan en el proyecto, siendo similar en ambos grupos.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por los fondos FIS del Instituto de Salud Carlos III (FIS PI12/00931). Agradecemos la participación a los pacientes y al personal de los Hospitales de Santa Creu i Sant Pau y La Fe por su trabajo y colaboración en el desarrollo del proyecto.

Referencias

- [1] Alberti, R. et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention. *Circulation*. American Heart Association. 2009.
- [2] OMS. Informe sobre la situación mundial de las enfermedades no transmisibles 2010. Resumen de Orientación. OMS. 2011.
- [3] Fernández, D. et al. Síndrome metabólico en España: prevalencia y riesgo coronario asociado a la definición armonizada y a la propuesta por la OMS. *Estudio DARIOS. Rev Esp Cardiol*. 2012;65:241-8 - Vol. 65 Núm.03 DOI: 10.1016/j.recesp.2011.10.015
- [4] Wilkins, E et al. *European Cardiovascular Disease Statistics 2017*. European Heart Network, Brussels. 2017.
- [5] Tapia, J. et al. PREDIRCAM 2. Plataforma Tecnológica para la Prevención de la Diabetes Tipo 2 y el Riesgo CardioMetabólico. XXXIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2015). 2015.
- [6] Klaassen, B et al. Usability in telemedicine systems—A literature survey, In *International Journal of Medical Informatics*, Volume 93, 2016, Pages 57-69, ISSN 1386-5056, <https://doi.org/10.1016/j.ijmedinf.2016.06.004>.
- [7] Parmanto, B. et al. Development of the Telehealth Usability Questionnaire (TUQ). *International Journal of Telerehabilitation* 8.1 (2016): 3–10. PMC. Web. 30 Sept. 2017.
- [8] Wadden, T. A., et al. Obese women's perceptions of their physicians' weight management attitudes and practices. *Archives of Family Medicine*, 9(9), 854. 2000.

Sistema de entrenamiento para el masaje cardiaco en la reanimación cardiopulmonar

D. Ruiz Fernández¹, D. Marcos Jorquera¹, A. de Ramón Fernández¹, V. Vives Boix¹, V. Gilart Iglesias¹, M. Moreno García de Dionisio²

¹ Departamento de Tecnología Informática y Computación, Universidad de Alicante, Alicante, España, {druiz, dmarcos, aderamon, vvives, vgilart}@dtic.ua.es

² Servicio de Urgencias, Hospital Universitario de San Juan, San Juan, España, moreno_margara@gva.es

Resumen

La reanimación cardiopulmonar (RCP) es una maniobra de emergencia que incrementa sustancialmente las probabilidades de supervivencia ante una situación de paro cardiaco. El entrenamiento de la técnica es fundamental para su correcta ejecución. En este trabajo se propone un sistema de entrenamiento para el masaje cardiaco en la RPC basado en un dispositivo “wearable” cuyas principales características son la baja interferencia con el procedimiento, usabilidad, flexibilidad, bajo coste y portabilidad. Se ha propuesto un modelo funcional y una arquitectura que cubren el ciclo completo del entrenamiento, incluyendo tanto la instrucción como la evaluación. Por último, para validar la propuesta, se ha diseñado e implementado un prototipo funcional basado en la propuesta.

1. Motivación

La parada cardíaca es el cese de la actividad mecánica del corazón que pierde la capacidad para bombear sangre de forma eficaz fundamentalmente a cerebro. Es un diagnóstico clínico definido por ausencia de pulso detectable, inconsciencia y apnea (o respiración agónica o entrecortada). Solo en Estados Unidos suceden más de 350000 paros cardíacos extra hospitalarios y en el 90% de estos casos el resultado es la muerte de la persona que ha sufrido el paro cardíaco [1].

La reanimación cardiopulmonar (RCP) es un procedimiento de emergencia, utilizado ante una situación de paro cardíaco, que puede salvar la vida de una persona. Esta técnica combina respiración de rescate y compresiones torácicas, que tienen por objetivo mantener el flujo de sangre a órganos vitales como el cerebro. La realización de esta maniobra en los primeros minutos tras el paro cardíaco, puede duplicar o triplicar la probabilidad de supervivencia de una persona [1].

La RCP es una técnica que exige un entrenamiento previo y la exactitud en su ejecución es fundamental para que la maniobra pueda dar resultados positivos. Además, la necesidad de la técnica suele presentarse en ambientes no controlados y situaciones estresantes con lo que la posibilidad de error aumenta. Una buena formación realizada por especialistas en urgencias médicas es indispensable.

Es posible detectar varios problemas relacionados con la técnica, incluso para personal que ha recibido la formación

adecuada. La realización de la técnica es físicamente costosa lo que implica en la práctica que sea realizada por más de una persona que se vayan intercambiando; mucha gente no tiene la fuerza suficiente para realizar la técnica más de diez minutos.

La RCP se puede dividir en dos partes; por un lado una serie de compresiones rítmicas a la altura del esternón que van a ayudar a mantener el flujo de sangre a los diferentes órganos; por otro lado insuflaciones de aire para conservar la llegada de oxígeno a la sangre. El ritmo y el número de compresiones es un factor clave que a menudo se hace incorrectamente, incluso por personal sanitario. Expertos de la American Heart Association [1] recomiendan realizar de 100 a 120 compresiones por minuto para un paciente adulto, combinado con 2 insuflaciones cada 30 compresiones. La duración de las insuflaciones debe ser de un segundo teniendo la precaución de verificar que el esternón sube en cada insuflación (está entrando aire). En cuanto a las compresiones, estas deben hacer descender el esternón entre 5 y 6 centímetros en adultos.

Las recomendaciones anteriores ponen de relieve la importancia del entrenamiento del masaje cardíaco, máxime si se tiene en cuenta el grado de estrés con el que se realiza esta maniobra.

En esta propuesta se plantea un sistema basado en un dispositivo *smartwatch* para que pueda servir de ayuda en el entrenamiento del masaje cardíaco en la reanimación cardiopulmonar.

2. Antecedentes

Últimamente, gracias a la prensa y a una cada vez mayor concienciación, la preocupación por las afecciones cardíacas ha aumentado y con ello el interés por conocer técnicas de reanimación que pueden salvar la vida de una persona en un momento crítico. Ante esta demanda de información, han surgido diferentes aplicaciones móviles orientadas a enseñar y guiar durante la maniobra de reanimación cardiopulmonar. Algunas de estas aplicaciones describen paso a paso la realización de la RCP como es el caso de la aplicación CPR11 [2], que describe en un conjunto de videos cortos una guía de acción para identificar un paro cardíaco y comenzar una RCP. Se trata de una aplicación únicamente de enseñanza que muestra los conocimientos teóricos relacionados con la RCP pero

que no puede comprobar si un usuario está actuando tal y como indica el video; esta limitación supone una desventaja ya que no se incorpora ningún tipo de *feedback* que pueda ayudar al usuario a mejorar su técnica durante el entrenamiento.

La realimentación sobre la corrección o no de la maniobra de RCP que se está llevando a cabo es imprescindible en un entorno de aprendizaje ya que sin esta realimentación, una persona que está aprendiendo y no tiene experiencia no sabe con seguridad si está realizando la RCP correctamente. Existen dispositivos que, junto con el uso de maniqués, puedan dar información de realimentación sobre la profundidad o el ritmo de las compresiones [3]. Algunos de estos dispositivos son móviles y se pueden situar debajo de las manos como el TrueCPR™ [4] pero se trata de incorporar un elemento extraño a la maniobra en sí y que, además, el usuario difícilmente lo tendrá a su alcance fuera de las sesiones de prácticas para poder entrenar en su casa o como ayuda en una situación real de emergencia.

Hay también aplicaciones móviles que ayudan en la formación de RCP incorporando algún tipo de realimentación. Un ejemplo es la aplicación desarrollada en [5] en la que el usuario sostiene el móvil entre las manos mientras realiza las compresiones; un pitido indica al usuario cuándo hacer las compresiones. Gracias al acelerómetro del dispositivo móvil, la aplicación detecta el ritmo de las compresiones y avisa al usuario con diferentes sonidos según lo esté realizando de forma correcta o no. Este sistema presenta el problema de tener que incorporar entre las manos un dispositivo ajeno a la maniobra en sí, lo que puede implicar que las manos no se coloquen correctamente o que no se ejerza la presión necesaria por miedo a dañar el teléfono móvil. Además, el usuario debe estar atento a los sonidos con lo que le puede ser útil en un entorno de entrenamiento, pero pierde utilidad en ambientes reales que pueden ser muy ruidosos.

Entre los sistemas que se utilizan para proporcionar una realimentación en el entrenamiento de RCP podemos encontrar dos grupos. Por un lado dispositivos como el que se ha comentado, el TrueRCP™, que están fabricados adhoc para asistir al usuario en el entrenamiento y, por otro lado, aplicaciones para el *Smartphone* que, si bien no es un dispositivo específico para el entrenamiento, tiene como ventaja que puede usarse también en entornos reales ya que se suelen llevar continuamente. Los dos grupos presentan como problema común que su uso no es transparente al usuario y que puede afectar negativamente a la realización de la maniobra al tener que usar durante la realización de la técnica un elemento que es ajeno a la misma.

3. Diseño de la propuesta

Una vez estudiados los distintos sistemas actuales orientados a la realización de la maniobra RCP, en este trabajo se propone el un novedoso sistema de entrenamiento y evaluación para el masaje cardiaco en la reanimación cardiopulmonar. En el diseño del sistema propuesto se han tenido en cuenta características de los sistemas actuales que pueden suponer una limitación a la

hora de realizar la maniobra de RCP. Por lo tanto, y según el análisis previo realizado, los objetivos que se plantean alcanzar con nuestro sistema son los siguientes.

- **Baja interferencia física en el procedimiento de RCP.** Es deseable que la interferencia en la ejecución de la maniobra sea lo mínimo posible o incluso que no haya interferencia alguna, es decir, que la realimentación provenga de algún sistema que, de forma natural y poco intrusiva, esté presente en la maniobra.
- **Usabilidad.** La realización de la maniobra de RCP exige una concentración máxima lo que limita el uso de interfaces visuales y sonoras. La comunicación entre el sistema y el usuario tiene que ser lo más desatendida posible, utilizando mecanismos que no distraigan de la ejecución de la técnica.
- **Bajo coste.** El sistema debe de estar basado en componentes de bajo coste que facilite su implantación en los centros educativos.
- **Portabilidad.** La posibilidad de transportar el sistema de entrenamiento a diversos lugares aportaría a los estudiantes flexibilidad a la hora de realizar las prácticas, pudiendo hacerlo incluso en casa.
- **Flexibilidad.** El sistema debe de ser capaz de adaptarse a diferentes escenarios, en función de las características del proceso realizado o de los usuarios que lo llevan a cabo.

Además, se contempla que funcionalmente el sistema cubra el proceso completo de aprendizaje de la maniobra RCP, incluyendo tanto el asesoramiento al usuario en la *fase de entrenamiento*, como su posterior análisis y valoración en la *fase de evaluación*.

Teniendo en cuenta estos requerimientos nuestra propuesta consiste en un sistema basado en un dispositivo *wearable* como puede ser una *smartband* o un *smartwatch*. Estos dispositivos, al situarse en la muñeca del usuario, pueden detectar el movimiento que estos realizan durante la técnica del RCP sin interferir en el proceso, con lo que se puede alcanzar el objetivo de baja interferencia. Además, y debido a la alta aceptación de estos dispositivos en la actualidad, existen multitud de modelos en el mercado con costes relativamente bajos si los comparamos con otros sistemas. Por último, su reducidas dimensiones y capacidad de programación permiten satisfacer los objetivos de portabilidad y flexibilidad.

Para la comunicación entre el sistema y el usuario durante el proceso de entrenamiento, proponemos como mecanismo principal de interacción el uso de vibraciones en el dispositivo que permitan asesorar en la cadencia de las compresiones. Las vibraciones son mensajes sencillos y poco intrusivos que evitan distracciones en el proceso a realizar, incidiendo satisfactoriamente en el objetivo de usabilidad propuesto. Adicionalmente, el dispositivo se puede configurar para utilizar mensajes sonoros y visuales que fortalezcan la comunicación en caso de que sea necesario.

Para garantizar la correcta realización de la técnica, el dispositivo registrará los movimientos realizados por el

usuario para posteriormente realizar un análisis cualitativo de los mismos. Para ello el dispositivo deberá, o bien mostrar esta información (si dispone de una pantalla lo suficientemente grande para esta tarea), o bien permitir la comunicación de esta información (recomendablemente de forma inalámbrica) a otro dispositivo donde realizar el análisis. Este segundo dispositivo podrá ser un smartphone, una tableta o un ordenador personal, donde el análisis se podrá realizar de forma más cómoda y eficiente.

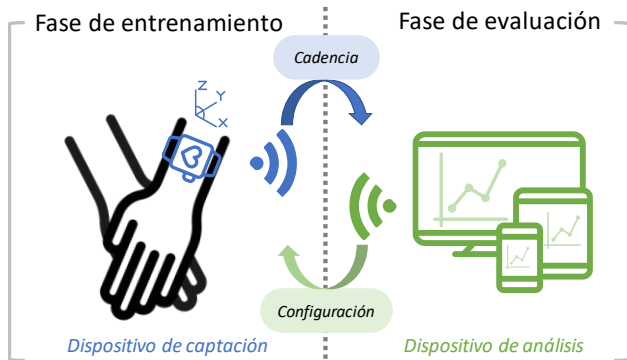


Figura 1. Modelo funcional de la propuesta

Adicionalmente, desde el dispositivo de análisis se podrá configurar el dispositivo de captación, incluyendo parámetros de comunicación, cadencia objetivo, sensibilidad de la monitorización, nivel de la vibración o tipos de mensajes para el usuario. Cabe destacar que se podrá configurar un modo silencioso, donde el dispositivo de captación no asesora al usuario en la ejecución, modo muy útil para la evaluación de la técnica realizada por el usuario.

En la figura 1 se puede observar el modelo funcional propuesto.

4. Arquitectura del sistema

Una vez definidos los objetivos y los requisitos funcionales de la propuesta a continuación se plantea una arquitectura que haga viable el modelo funcional.

Los requerimientos que debe cumplir el dispositivo de captación son los siguientes.

- **Obligatoriamente**, capacidad de ser programado para incluir el sistema propuesto, un sensor de movimiento, como puede ser un acelerómetro para obtener la cadencia durante el proceso y la capacidad de vibrar para asistir al usuario en la frecuencia.
- **Recomendablemente**, conexión inalámbrica para ofertar la información y configurar el dispositivo de forma remota.
- **Opcionalmente**, un conjunto de botones o un panel táctil para interactuar con el dispositivo, una pantalla para mostrar información complementaria y un altavoz para asesorar al usuario con mensajes de audio.

En la Figura 2 se puede observar la arquitectura resultante para el dispositivo de captación. En ella se muestran los distintos módulos hardware identificados, así como los módulos software necesarios para llevar a cabo los requerimientos propuestos.

Para almacenar, tanto el histórico de la cadencia detectada como de la configuración actual, se propone el uso de un **sistema de almacenamiento** donde registrar esta información de forma persistente.

Un **módulo de reconocimiento** permite al sistema, a partir de los datos aportados por el acelerómetro, identificar las compresiones realizadas por el usuario. La salida de este módulo será por tanto la cadencia de compresión.

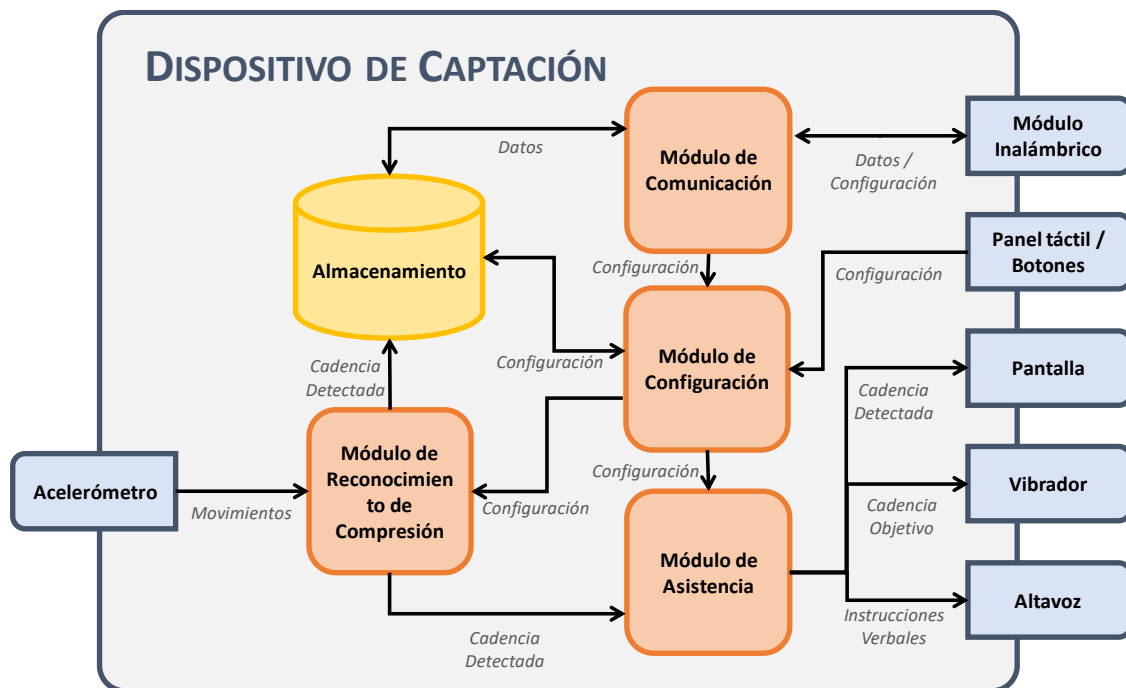


Figura 2. Arquitectura del dispositivo propuesto

El **módulo de asistencia** es responsable de instruir al usuario en la correcta ejecución de la técnica. Para ello, informará al usuario mediante vibraciones de la cadencia objetivo establecida previamente, aportando una asistencia poco intrusiva y altamente usable. En caso de contar con altavoz o pantalla, se podrá complementar la información aportada con mensajes que indiquen al usuario si por ejemplo debe incrementar o disminuir la cadencia de compresiones.

Para alcanzar flexibilidad en la propuesta, los distintos módulos que lo conforman estarán parametrizados. La gestión de esta parametrización será realizada por el **módulo de configuración**. La entrada de este módulo será la información establecida bien mediante una interfaz física del dispositivo de captura (botones o paneles táctiles) o bien mediante una configuración remota a través de un canal inalámbrico.

Para centralizar las comunicaciones, se propone el uso de un **módulo de comunicación** que recoge tanto las operaciones de configuración remota como las solicitudes de información sobre la ejecución de la técnica para su posterior evaluación.

5. Prototipo

Para validar tanto el modelo funcional como la arquitectura propuesta, se ha desarrollado un prototipo basado en ella.

Como dispositivo de captación se ha utilizado un *Samsung Gear S3 frontier*. Se trata de un *smartwatch* comercial basado en la plataforma *Tizen* que cuenta con acelerómetro, vibrador, pantalla táctil y altavoz, por lo que permite testear todos los requerimientos funcionales de la propuesta. Para el desarrollo de la aplicación se ha utilizado un modelo de programación soportado por la plataforma que utiliza tecnologías web y basado en los estándares HTML, CSS y JavaScript, lo cual ha permitido un desarrollo ágil y flexible.

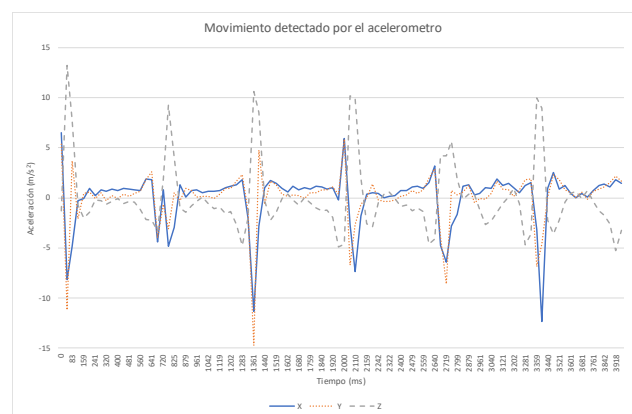


Figura 3. Fragmento de captación del movimiento mediante acelerómetro

Para detectar la cadencia llevada durante la ejecución de la técnica, se ha utilizado los eventos de movimiento aportados por el dispositivo. Este movimiento es codificado en aceleraciones en los tres ejes (series X, Y y Z

de la Figura 3) que son analizados mediante una técnica de máximos locales para identificar en qué instante se realiza cada compresión.

Como dispositivo de análisis se ha utilizado un smartphone modelo *Samsung J5 2017* con plataforma *Android 7.0*. Para la implementación de la aplicación móvil también se ha utilizado tecnología Web, en este caso mediante la plataforma *Apache Cordova*.

Para la comunicación entre ambas aplicaciones se utilizó la tecnología *Bluetooth*, soportado tanto por los dispositivos como por las plataformas de desarrollo utilizadas.

El prototipo fue utilizado satisfactoriamente por estudiantes de la Universidad de Alicante, lo cual permitió validar su adecuación para los objetivos planteados en este estudio.

6. Conclusiones

En este trabajo se propone un sistema de entrenamiento y evaluación para el masaje cardiaco en la reanimación cardiopulmonar basado en un dispositivo *wearable* que, a diferencia de otras propuestas, aporta un bajo nivel de interferencia en la realización de maniobra.

Se ha propuesto un modelo funcional y una arquitectura que cubren el ciclo completo del entrenamiento, incluyendo tanto la instrucción como la evaluación.

Finalmente, el diseño e implementación de un prototipo ha permitido evaluar la adecuación de la propuesta.

Agradecimientos

Este trabajo está subvencionado por el Ministerio de Economía y Competitividad del Gobierno de España (ref. TIN2014-53067-C3-1-R) y cofinanciado por FEDER.

Referencias

- [1] America Heart Association: CPR Facts and Stats. URL: www.heart.org. (Consultada: septiembre de 2017).
- [2] Serratos, L.J., Kramer, E.B., Pereira, H.D., Dvorak, J., Ripoll, P.L.: CPR 11: a mobile application that can help in saving lives (Mobile App User Guide). *British Journal of Sports Medicine* 50(13), 2016, pp 823-824.
- [3] Truszewski, Z., Szarpak, L., Kurowski, A., Evrin, T., Zasko, P., Bogdanski, L., Czyzewski, L., Randomized trial of the chest compressions effectiveness comparing 3 feedback CPR devices and standard basic life support by nurses, *The American Journal of Emergency Medicine*, Volume 34, Issue 3, 2016, pp 381-385 (ISSN 0735-6757) <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajem.2015.11.003>.
- [4] Página web de la empresa Physiocontrol. URL: <http://www.physio-control.com/TrueCPR/>. (Consultada: septiembre de 2017)
- [5] Srither, D.E., Lateef, F.: A novel CPR training method using a smartphone app. *Journal of Acute Disease* 5(6), 2016, pp. 517-520

Robótica

Jueves, 30 de Noviembre

Diseño cinemático de dispositivo de tracking del paciente para procedimientos quirúrgicos.

A. Amarillo Espitia¹, E. Sanchez Tapia², C. Suarez Sapico³, J. Oñativia⁴, J. Presa⁵

¹ Robótica y Visión, CEIT, San Sebastián, España, amarillo@ceit.es

² Robótica y Visión, CEIT, San Sebastián, España, esanchez@ceit.es

³ Robótica y Visión, CEIT, San Sebastián, España, csuarez@ceit.es

⁴ EGILE Innovative Solutions, Mendaro, España, jonativia@egile.es

⁵ EGILE Innovative Solutions, Mendaro, España, jpresa@egile.es

Resumen

The Goal of this work is to develop and test an electromechanical tracking device for surgery, to increase the accuracy of the surgical intervention and to avoid the problems of classical optical tracking devices that are commonly used in operating rooms. This Paper shows the design, construction and testing of the tracking device to be used in a robotic assistance system for spine surgery.

1. Introducción

Algunos factores críticos que pueden influir en la recuperación de una intervención quirúrgica son la precisión con la que se haya llevado a cabo el procedimiento y que tan invasiva fue [1]. Diversos sistemas han sido creados para ayudar a los cirujanos a mejorar dicha precisión y reducir las incisiones que se tienen que realizar para llevar a cabo el procedimiento, ayudando en algunos casos al cirujano a identificar los tejidos que tiene que intervenir (realidad aumentada) o inclusive restringiendo sus movimientos [2][3], para asegurar que realice el procedimiento quirúrgico como lo había planeado. Para que estos sistemas puedan llevar a cabo su tarea con precisión es indispensable que detecten los movimientos que pueda tener el paciente, por lo que usualmente poseen un dispositivo que permite realizar el seguimiento (tracking) de este. Por lo general estos sistemas de seguimiento son ópticos, consisten en sistemas de cámaras y marcadores que indican la posición del paciente durante la intervención, sin embargo, la pérdida de la información de la posición del paciente, causada por la oclusión es un problema muy discutido de estos sistemas de seguimiento [4][5].

En este artículo, por tanto, se describe el diseño de un dispositivo de seguimiento electromecánico intra-operatorio, pensado para aplicación en el campo de cirugía mínimamente invasiva, con el fin de permitir conocer la posición del área a intervenir con precisión y sin pérdidas de información.

2. Estado del arte

Diversos tipos de dispositivos de seguimiento han sido desarrollados con el crecimiento y afianzamiento de la realidad virtual y sus aplicaciones. Estos varían en cuanto a su tipo de funcionamiento en mecánicos, ópticos, electromagnéticos y acústicos.

La aparición y éxito de los sistemas de cirugía asistida por ordenador han llevado al uso de este tipo de dispositivos dentro de las salas de cirugía para poder obtener la posición del paciente y el instrumental quirúrgico, con el fin de saber la posición relativa entre ambos, y guiar los procedimientos quirúrgicos. De igual forma la creciente aparición de sistemas robóticos de asistencia quirúrgica para incrementar la precisión de los procedimientos quirúrgicos y permitir que se lleven a cabo de forma menos invasiva, han llevado a que estos sistemas de seguimiento sean cada vez más indispensables y que su precisión sea mayor.

Los dispositivos de seguimiento ópticos son los que se usan de forma más extendida en aplicaciones quirúrgicas, sistemas como el Polaris (Nothorn Digital Inc[4], Micron Tracker (Claron Technology Inc) [6], Stealthstation S7 (Medtronic, EEUU) [7], entre otros, son usados en aplicaciones quirúrgicas hoy en día. Sin embargo, para que estos sistemas de seguimiento funcionen adecuadamente, se necesita garantizar que hay una línea de visión entre la cámara y los marcadores que permiten identificar el objeto a seguir, lo que limita y condiciona el espacio de trabajo, tanto del cirujano y el personal de cirugía, como del robot, en el caso de los sistemas de asistencia robótica.

Esta limitación de los sistemas ópticos ha llevado al desarrollo de otros tipos de dispositivos de seguimiento, en particular los dispositivos de seguimiento electromagnéticos, estos detectan con pequeños sensores los cambios dentro de un campo electromagnético con geometría conocida [8], lo que permite detectar la ubicación de un objeto dentro del espacio de trabajo. Este tipo de dispositivos de seguimiento es principalmente usado en sistemas de detección de movimiento para la industria de la animación y aplicaciones similares, sin embargo, también se han llevado a aplicaciones quirúrgicas, como procedimientos endoscópicos [9], braquiterapia [10], entre otros. El Aurora System (Nothorn Digital Inc) y 3D guidance trakStar (Nothorn Digital Inc), son algunos de los dispositivos comerciales de tracking electromagnéticos para aplicaciones médicas que más se utilizan actualmente.

A pesar de que este tipo de dispositivos de seguimiento superan la limitación de la línea de visión entre las cámaras y los marcadores, son susceptibles a distorsión cuando están cerca de elementos metálicos y la precisión en la detección de la posición puede llegar a estar en 1.4 ± 0.6 mm

[11] frente a una precisión de hasta 1 mm que pueden alcanzar los sistemas ópticos en situaciones similares [12].

3. Descripción del sistema

Se realiza el diseño y construcción de un prototipo de sistema de tracking electromecánico que permita obtener la posición de un paciente de forma precisa y evitando pérdidas de información. Aunque el dispositivo de tracking descrito en este artículo podría ser usado para diversos procedimientos de tracking en salas de cirugía, se describe para ser usado en procedimientos de fijación transpedicular asistidos robóticamente.

En este caso el dispositivo de tracking aquí descrito permite al sistema detectar la posición relativa entre los pedículos de las vértebras a ser intervenidas y el robot, de forma que este haga seguimiento de los posibles movimientos del paciente y ayude al cirujano a realizar el procedimiento con precisión, reduciendo los riesgos de lesión permanente que se pueden causar por errores en la ubicación de los elementos de fijación.

Durante la concepción del dispositivo se plantean dos opciones, una que el dispositivo se acople a la base del robot (ver *Figura 1*) y otra que se acople al efector final del robot. Se revisaron las ventajas y desventajas de ambas opciones y se validaron mediante la construcción de prototipos, llegando a la conclusión de que, aunque el espacio de trabajo del robot se puede ver reducido al acoplar el dispositivo al efector final del robot, el hacerlo de esta forma permite que el dispositivo sea de menor dimensión, interfiera menos con el espacio de trabajo del cirujano y que el sistema pueda calcular el error de posición del robot por las medidas del dispositivo, lo que permitiría que la precisión que se alcance con el sistema pueda ser independiente del brazo robot que se use para la aplicación.



Figura 1. Prototipos de validación acople.

Por las razones descritas, el dispositivo de tracking se ubica entre el efector final del robot y un elemento de referencia sujeto a una de las vértebras del paciente tal y como queda ilustrado en la

Figura 2.

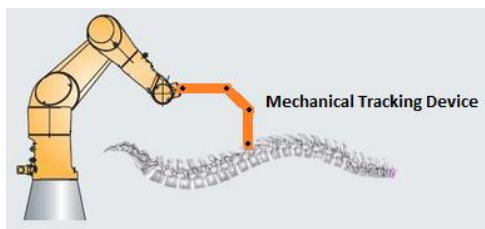


Figura 2. Esquema de sistema en el que se aplica el dispositivo de tracking desarrollado.

Para desarrollar el dispositivo de tracking es necesario determinar la configuración cinemática del mismo, el espacio de trabajo, la manipulabilidad y el tamaño entre otros factores.

4. Diseño cinemático

Configuración

El dispositivo es un elemento electromecánico pasivo, que tiene seis grados de libertad, los cuales le permiten moverse y por lo tanto monitorizar los desplazamientos de la vértebra en las seis direcciones espaciales, tres de translación y tres de rotación. Estos son constantemente monitorizados por encoders rotatorios, con lo cual en el sistema se puede calcular la posición relativa de la herramienta y del paciente.

Se eligió una configuración de seis grados de libertad del dispositivo, para permitir que se monitoricen los seis desplazamientos relativos que podría llegar a tener el paciente con respecto a la herramienta. Aunque con más grados de libertad fuese posible monitorizar estos desplazamientos y se mejorara la Manipulabilidad, se descarta su uso debido a un incremento importante en la complejidad tanto del diseño como del cálculo para determinar el movimiento del dispositivo tras ejecutar un movimiento del robot.

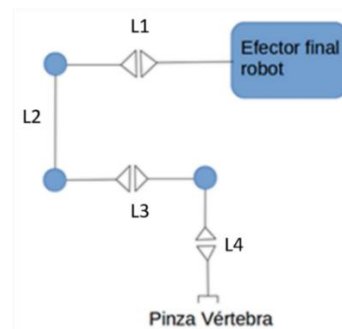


Figura 3. Cadena cinemática del dispositivo de tracking.

La configuración seleccionada para el dispositivo es la misma que se usa en la mayoría de brazos robóticos industriales *Figura 3*.

Para que el dispositivo funcione adecuadamente es necesario obtener la longitud óptima para los eslabones teniendo en cuenta el espacio de trabajo que vaya a tener este.

Tamaño de los eslabones

Los factores que se tuvieron en cuenta para determinar las longitudes óptimas de los eslabones del dispositivo fueron:

- Entre mayor longitud de L2 y L3, mayor será el espacio de trabajo. La cadena cinemática propuesta, permite desacoplar el control de la posición utilizando las 3 primeras articulaciones, al ser la primera articulación de tipo roll, el espacio que puede alcanzar el dispositivo queda determinado por L2 y L3.
- Para que haya mayor alcanzabilidad, L2 y L3 deben ser similares. Debido al tipo de cinemática propuesta

se tiene que el espacio alcanzable por el dispositivo estaría dado por:

$$\text{Zona Alcanzable} = \{(x, y, z) \in \mathbb{R}^3 : (l_2 - l_3)^2 \leq x^2 + y^2 + (z - l_1)^2 \leq (l_2 + l_3)^2\}.$$

Teniendo esto en cuenta si L2 y L3 son similares el espacio iría desde cero hasta (L2+L3), formando una esfera.

- Dado que las 3 últimas articulaciones tienen el propósito de orientar el extremo del dispositivo, lo ideal sería que actuaran en un mismo punto, para lo cual L4 debería ser cero, ya que esto no es posible es recomendable hacerlo lo más pequeño posible, lo que brinda mayor alcanzabilidad en orientaciones.

Como datos de partida para las dimensiones de los eslabones se toma un valor orientativo, a partir del cual se realizó un proceso iterativo que llevó a la optimización de las longitudes de los eslabones del dispositivo.

Para asegurar que el dispositivo de tracking pudiese moverse en todo el espacio de trabajo en posición y orientación, evitando que llegue a configuraciones singulares y a límites de movimiento de los ejes, se realizó un estudio de Manipulabilidad y alcanzabilidad, usando la cinemática inversa del dispositivo mediante simulación. Los resultados de esta simulación permitieron llegar a determinar las longitudes óptimas para los eslabones del dispositivo.

Manipulabilidad, alcanzabilidad y espacio de trabajo

En el proceso de simulación se creó un set de posiciones 3D cartesianas para muestrear la Manipulabilidad y alcanzabilidad del dispositivo a lo largo del espacio de trabajo (Figura 4). Estas se analizan calculando el índice dado por el número de condición de la matriz Jacobiana en cada posición. Este índice varía de 1, cuando hay mayor Manipulabilidad y el dispositivo tiene un comportamiento isotrópico en todas las dimensiones, a infinito en caso de llegar a una configuración singular.

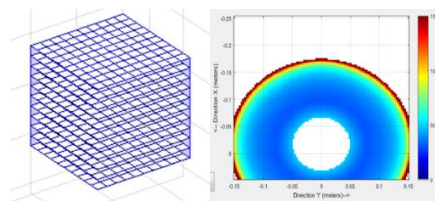


Figura 4. Izq.: Espacio de trabajo en el que se realiza la muestreo de Manipulabilidad y alcanzabilidad. Der: Resultado de análisis de Manipulabilidad en un plano muestreado del espacio de trabajo.

Tras realizar el análisis de Manipulabilidad y alcanzabilidad del dispositivo a lo largo de su rango de movimientos, se determinó un espacio de trabajo para la aplicación, el cual determina el tamaño de los eslabones. Para este caso se define un paralelepípedo de 6,5x6,5x13 cm, para que se pueda realizar la intervención quirúrgica en tres vértebras sin tener que reubicar el efector final del dispositivo. Con el análisis de Manipulabilidad y alcanzabilidad obtenido se seleccionó la zona en la que debía ubicarse el espacio de trabajo de la aplicación, con lo

que se obtuvo la configuración inicial del dispositivo y sus dimensiones.

En la Figura 5 se observan las distintas ubicaciones en las que se puede fijar el espacio de trabajo del dispositivo. Se analizan las dimensiones obtenidas para el dispositivo y la alcanzabilidad en las ubicaciones mencionadas anteriormente y se llega a la solución óptima con la posición inicial del dispositivo ubicada en la posición X=-142.5mm, Y=0mm y Z=-10mm medida desde la base del dispositivo a su efector final. De igual forma con esta posición y respetando los criterios de diseño se llega a unas dimensiones de los eslabones de L1=88mm, L2=104mm, L3=104mm, L4=35, L5<17.3mm.

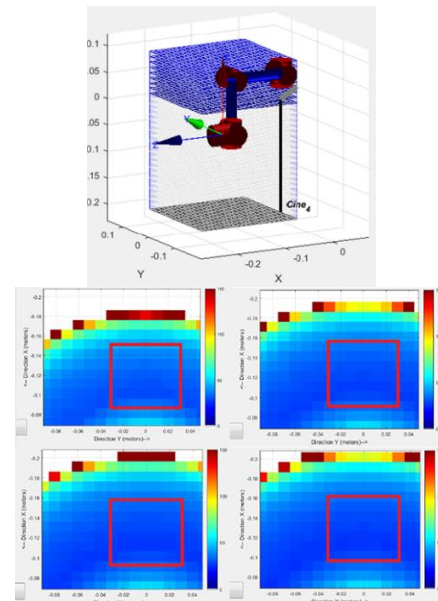


Figura 5. Arriba.: Modelo de cadena cinemática y espacio de trabajo analizado. Abajo: Selección de zona con índice de Manipulabilidad adecuado para espacio de trabajo de la aplicación.

5. Fabricación de dispositivo

Una vez obtenidos estos resultados se realizó el diseño mecánico del dispositivo, y se fabricó mediante prototipado rápido para hacer las correspondientes pruebas de concepto.

Posteriormente, tras obtener resultados satisfactorios se fabricó en titanio para obtener una alta precisión en la medición.

6. Resultados

Tras fabricar el dispositivo se procede a realizar las pruebas de precisión del mismo, para lo cual se construye un cubo de calibración que consta de 96 puntos de medida, estos puntos de medida corresponden a conos que han sido mecanizados a distintas alturas dentro del cubo de calibración como se puede ver en la Figura 6, estos puntos de medida han sido medidos en metrología haciendo uso de un palpador con esfera de rubí. Igualmente se llevó el dispositivo fabricado a metrología para medir sus dimensiones con alta precisión haciendo uso del mismo palpador.

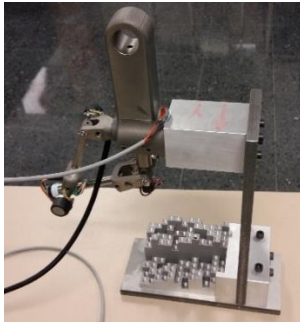


Figura 6. Dispositivo electromecánico de tracking y Cubo de calibración.

Se conecta el dispositivo a un palpador y se guardan las posiciones medidas por el mismo en cada uno de los puntos, se mide el error medio cometido por el dispositivo en los 96 puntos de calibración (Figura 7) y se obtiene un error de 77,7 μm .



Figura 7. Medida de los puntos con dispositivo de tracking.

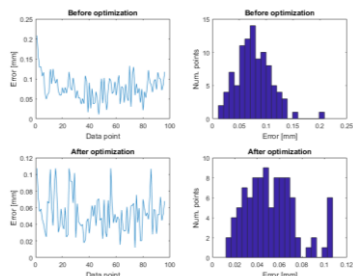


Figura 8. Resultados de medida dispositivo de tracking electromecánico.

7. Agradecimientos

El presente trabajo de investigación fue posible gracias a los proyectos ROBOTRACKER, ELCANO, MAXILARIS, y a las personas que han trabajado en ellos, por lo cual merecen sinceros agradecimientos por los aportes que han brindado para su realización.

8. Referencias

- [1] Varela-Egocheaga J.R., et Al., «Minimally invasive posterior approach in total hip arthroplasty.» *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, pp. 113-143, 2010.
- [2] Door L.D, et al., «Robotic Guidance in Total Hip Arthroplasty: the shape of things to come.» *Orthopedics*, pp. 652-655, 2011.
- [3] Landeira M., Sánchez E, Tejada S, Díez R, «Desarrollo e implementación de una estrategia de gestión de singularidades para un sistema robótico redundante cooperativo destinado a la asistencia en intervenciones quirúrgicas.» *Revista Iberoamericana de Automática e Informática Industrial RIAI*, pp. 80-91, 2015.
- [4] Tovar-Arriaga S, Tita R, Pedraza-Ortega JC, et al., «Development of a robotic FD-CT-guided navigation system for needleplacement-preliminary accuracy tests.» *Int J Med Robot*, pp. 225-236, 2011.
- [5] Ortmaier T, Weiss H, Döbele S, et al., «Experiments on robot-assisted navigated drilling and milling of bones for pedicle screwplacement.» *Int J Med Robot*, pp. 350-363, 2006.
- [6] Tai-Hong Kuo, Tung-Yiu Wong, Tung-Chin Wu, and Jing-Jing Fang, «Optical Tracking-Based Model Surgery for.» *IEEE TRANSACTIONS ON INFORMATION TECHNOLOGY IN BIOMEDICINE VOL. 16, NO. 6*, pp. 1193-1999, 2012.
- [7] Tien V. Le, Burkett C, Ramos E, Uribe JS., «Occipital condyle screw placement and occipitocervical instrumentation.» *Journal of Clinical Neuroscience 19*, pp. 757-760, 2012.
- [8] Birkfellner W, Hummel J, Wilson E, «Tracking Devices.» *Image-Guided Interventions*, Springer US, 2008, pp. 23-44.
- [9] Deguchi D, Akiyama K; Mori K, Kitasaka T; Suenaga Y, Maurer CR Jr; Takabatake H, Mori M; H, Natori, «A method for bronchoscope tracking by combining.» *Comput Aided Surg, 11*, pp. 109-117, 2006.
- [10] Lugez E; Sadjadi H; Joshi CP; Alk SG; Fichtinger G, «Improved electromagnetic tracking for catheter path reconstruction with application in high-dose-rate brachytherapy.» *International Journal of Computer Assisted Radiology and Surgery, 12*, pp. 681-689, 2017.
- [11] Mascott CR, M.D., «Comparison of magnetic tracking and optical tracking by simultaneous use of two independent frameless stereotactic systems.» *Operative Neurosurgery, 57*, pp. 295-301, 2005.
- [12] Rudolph T, Ebert L, Kowal J PhD, «Comparison of three optical tracking systems in a complex navigation scenario.» *Computer Aided Surgery, 15*, pp. 104-109, 2010.
- [13] Schweikard A, Glosser G, Bodduluri M, et al., «Robotic Motion Compensation for Respiratory.» *Computer Aided Surgery*, pp. 263-277, 2000.
- [14] Kurt S, Schramm A, Gellrich NC, «La navegación quirúrgica en el campo de la cirugía.» *CIRUGIA PLASTICA*, pp. 131-142, 2001.

ROBOT DE REHABILITACIÓN CONFIGURABLE PARA TERAPIAS DEL MIEMBRO SUPERIOR

A. Mancisidor¹, I. Cabanes¹, A. Zubizarreta¹, E. Portillo¹, A. Rodríguez², A. Brull¹

¹Departamento de Ingeniería de Sistemas y Automática, Escuela de Ingeniería de Bilbao, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Bilbao, España, {aitziber.mancisidor, itziar.cabanes, asier.zubizarreta, eva.portillo, asier.brull}@ehu.eus

²Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina y Enfermería, Universidad del País Vasco (UPV/EHU), Leioa, España, {ana.rodriguez}@ehu.eus

Resumen

La rehabilitación basada en dispositivos robóticos precisa de un robot capaz de adaptarse al estado de recuperación motora del paciente. En este trabajo se presenta un robot de rehabilitación reconfigurable denominado Universal Haptic Pantograph (UHP). Este dispositivo robótico, gracias a su estructura multiconfigurable, permite la rehabilitación del miembro superior (hombro, codo y muñeca) con un único dispositivo. Además, ha sido diseñado para trabajar con diferentes modalidades de interacción como son las asistidas, correctoras y opositoras, pudiendo así adaptarse al estado funcional progresivo del paciente durante el proceso de rehabilitación. Con el objetivo de garantizar el correcto funcionamiento de este sistema robótico se han realizado diferentes ensayos experimentales. Los resultados demuestran que el robot de rehabilitación UHP funciona correctamente con diferentes tareas de rehabilitación, realizando movimientos suaves que garantizan la seguridad del usuario en todo momento.

1. Introducción

Tras sufrir un ictus, es frecuente que el paciente pierda parte de su movilidad motora, siendo necesario realizar ejercicios de rehabilitación de los miembros superiores e inferiores [1]. Sin embargo, debido a limitaciones temporales, de personal y/o económicas, los programas de rehabilitación tradicionales priorizan la recuperación de las extremidades inferiores, dedicando muchos menos recursos a los miembros superiores.

Con el fin de paliar esta situación, en la que la rehabilitación se torna esencial para la recuperación de la movilidad motora, numerosos trabajos proponen el uso de dispositivos robóticos que permitan complementar la terapia de rehabilitación tradicional [2].

Los dispositivos robóticos de rehabilitación existentes, se clasifican en dos grandes grupos, los de contacto con el extremo y los exoesqueletos [3]. Los del primer tipo están basados en robots series industriales, por lo que son fáciles de diseñar y controlar. Sin embargo, al presentar un único punto de contacto, les imposibilita conocer y controlar la postura exacta de la extremidad. Esto dificulta determinar la fuerza realizada por cada articulación. Los exoesqueletos, en cambio, son mecanismos estructurales complejos cuyos segmentos y articulaciones se corresponden con las del miembro afectado, lo que les permite controlar con exactitud la postura y la fuerza ejecutada por cada parte de la extremidad. No obstante, dado que las longitudes y formas de los miembros

superiores varían de un usuario a otro, la adaptación al mismo es compleja, surgiendo problemas prácticos de implementación.

En este trabajo, se presenta un novedoso robot de rehabilitación que pretende adaptarse a las necesidades de los pacientes que requieran rehabilitación del miembro superior, el Universal Haptic Pantograph (UHP) [4]. La estructura multiconfigurable de este robot permite que un mismo dispositivo sirva para rehabilitar el hombro, el codo y la muñeca.

El resto del artículo se organiza como sigue: en la sección II, se detalla el robot de rehabilitación UHP; en la III, se proponen diferentes tareas de rehabilitación desarrolladas para el UHP; en la IV, se detalla el proceso de implementación del sistema de rehabilitación; en la V, se analizan los resultados de los ensayos experimentales; por último, resumirán las principales ideas.

2. Robot de rehabilitación reconfigurable

El UHP, Universal Haptic Pantograph, es un robot de rehabilitación para el entrenamiento de los miembros superiores [4]. Una de sus ventajas principales es la posibilidad de configurar su estructura mecánica mediante el uso de tres articulaciones bloqueables/desbloqueables (A, B y C) (Figura 1). Esta flexibilidad mecánica, le permite adaptarse a las necesidades del usuario y a la tarea a realizar, consiguiendo rehabilitar el hombro, el codo y la muñeca con un único dispositivo de estructura simple y de fácil uso.

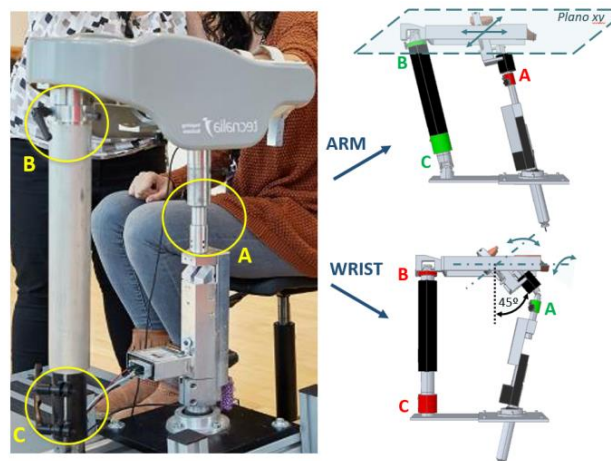


Figura 1: El robot de rehabilitación UHP.

Entre las ocho posibles configuraciones que posee, en este artículo se analizarán las dos más usadas, ARM y WRIST, las cuales se detallan en trabajos previos de los autores [5]. La configuración ARM (A bloqueada, B y C desbloqueadas) posibilita al robot realizar movimientos planares que se traducen en ejercicios de flexión/extensión del brazo. Esto permite realizar ejercicios asociados a los tres movimientos del hombro (rotación interna/externa, flexión/extensión y abducción/aducción) y el movimiento flexión/extensión del codo. En cambio, la WRIST (A desbloqueada, B y C bloqueadas), permite realizar ejercicios asociados a los movimientos de la muñeca (abducción/aducción y flexión/extensión) y el movimiento supinación/pronación del antebrazo.

3. Tareas de rehabilitación

En el apartado anterior se ha descrito la estructura del robot UHP y sus funcionalidades ARM y WRIST. Sin embargo, para que el dispositivo pueda ser utilizado con una finalidad terapéutica, es imprescindible diseñar y programar las tareas de rehabilitación que debe ejecutar.

Dichas tareas se asemejan a los ejercicios ejecutados durante las sesiones de tratamiento convencional, las cuales se basan en la movilización guiada del miembro afectado, y en desplazamientos similares a los que el paciente afrontará en las actividades de la vida cotidiana.

Al mismo tiempo, se debe considerar que la rehabilitación es un proceso largo que se suele iniciar en los primeros días de estancia en el hospital, cuya duración puede variar desde meses hasta años. En los primeros días después del ictus, donde el paciente puede no poseer ninguna capacidad de reclutamiento motor, el robot debe asistir al usuario para que éste pueda ejecutar los movimientos. Pero cuando el paciente ya cuente con la capacidad de activar reclutamientos musculares, el robot debe dificultar la ejecución del movimiento, de forma que el usuario aprenda a reaccionar ante perturbaciones externas del entorno.

Por ello, se ha dotado al UHP la capacidad de adaptarse al nivel de recuperación del paciente, permitiendo ejecutar tareas asistidas, correctoras u opositoras [6].

3.1. Tareas Asistidas

Las Tareas Asistidas aplican asistencia en la dirección del movimiento a realizar, ayudando al usuario a ejecutar el ejercicio. Por tanto son las apropiadas para cuando el usuario no es capaz de activar reclutamientos musculares, es decir, generar movimiento por sí mismo.

Dependiendo del nivel de intensidad de la asistencia, se implementan tres modos: el pasivo, el asistido y el activo. En el modo *pasivo*, el robot ejecuta completamente los movimientos, ya que el paciente no es capaz de realizar reclutamientos musculares. En el modo *asistido*, el robot ayuda al paciente en aquella parte del recorrido que no puede realizar aplicando una fuerza asistida. En el modo *activo*, el usuario realiza el movimiento solicitado.

Aunque estos modos han sido ampliamente utilizados, todavía hay algunas limitaciones no resueltas. En el modo pasivo, teniendo en cuenta que es el robot quien ejecuta

repetitivamente los movimientos, puede suceder que el usuario pierda interés en la terapia robótica. Por lo que es aconsejable que el paciente comience a generar el movimiento del miembro afectado tan pronto como sea posible, implementando los modos asistido y activo. Sin embargo, en las primeras etapas de rehabilitación, el paciente no tiene capacidad suficiente para completar el ejercicio en el modo asistido o activo, lo que puede conducir a la frustración y al rechazo.

Ante esta situación, en este trabajo se propone el modo *activo-asistido-pasivo* descrito al detalle en [7]. En este modo, al principio se deja que el usuario realice el ejercicio sin ninguna ayuda (modo activo). Si pasado un tiempo no ha conseguido ejecutar la trayectoria deseada, se activa el modo asistido para que el UHP le ayude a finalizar la tarea. Si pasado otro rango de tiempo, el paciente no ha conseguido finalizar el ejercicio, se activa el pasivo donde el robot termina la tarea. Estos límites de tiempo son programables, por lo que el terapeuta puede ajustarlos a las necesidades de cada usuario.

3.2. Tareas Correctoras

Las tareas asistidas se centran en la ejecución del ejercicio, pero puede ocurrir que el paciente tenga capacidad para realizar los reclutamientos musculares solicitados, es decir, para generar fuerza y movimiento, pero que no controle la dirección de los mismos. En estos casos se implementan las tareas correctoras.

En el modo *corrector* propuesto en este trabajo, el usuario tiene que comportarse de una forma activa y generar movimiento, mientras que el UHP le ayuda a seguir la trayectoria deseada. Su funcionamiento es el siguiente: cuando está dentro de una región predefinida, al alejarse de la trayectoria deseada, el robot le aplica una fuerza en dirección a dicha trayectoria, obligando a que sea el sujeto el que realice el movimiento. Pero si sale de la región, el UHP aumenta la asistencia obligando a volver a la región.

3.3. Tareas Opositoras

Con las tareas asistidas y correctoras, el paciente realiza ejercicios apropiados para las primeras fases del tratamiento en los que debe aprender a organizar y generar el movimiento del miembro afectado. No obstante, con el objetivo de conseguir la capacidad de enfrentarse a tareas cotidianas como mover elementos de poco peso o abrir cajoneras, se debe mejorar su destreza. Para ello, en las últimas fases, se deben emplear tareas que dificulten la ejecución del ejercicio, es decir, las tareas opositoras.

Para el robot UHP, se han diseñado tres modos basados en la oposición: el resistido, la introducción de fuerzas externas y la amplificación del error.

En el modo *resistido*, el UHP realiza una fuerza en la dirección opuesta a la trayectoria de movimiento, reproduciendo la sensación de estar empujando un elemento. Esta fuerza varía dependiendo del estado de recuperación del usuario y del ejercicio a realizar. De esta forma, el paciente consigue aumentar y controlar la fuerza realizada con el miembro afectado.

Con el modo resistido, el usuario aprende a hacer frente a una fuerza de un dirección concreta, pero en la vida cotidiana, una fuerza exterior puede tener distintas direcciones y puede aparecer o desaparecer sin previo aviso. Con el fin de preparar al paciente para interactuar con perturbaciones desconocidas, en el *modo introducción de fuerzas externas*, el UHP aplica fuerzas aleatorias que van variando de módulo y de dirección.

La tarea correctora propuesta ayuda a mejorar la dirección del movimiento aplicando una fuerza asistida hacia la trayectoria deseada. Esta asistencia está bien para las fases iniciales en los que el paciente no tiene capacidad de corregir el error por sí mismo, pero en la vida real, debe ser el propio usuario el que actúe. Sin embargo, algunas veces, les cuesta reaccionar, es por ello por lo que se implementa el modo *amplificación del error*. En este modo, con la intención de que el paciente reaccione, el robot aumenta el error cometido por el usuario.

3.4. Diseño del controlador

Las tareas de rehabilitación propuestas definen el comportamiento deseado del robot, es decir generan una referencia de fuerza o de posición. Pero para que el dispositivo robótico pueda seguir estas consignas, es necesario un controlador de bajo nivel apropiado, robusto y seguro.

Con este propósito, se ha diseñado un algoritmo de control avanzado formado por un controlador de impedancia adaptativo, un controlador de fuerza basado en el comportamiento dinámico del robot y un controlador de posición [8]. Además, con el objetivo de garantizar una transición suave y segura entre diferentes algoritmos de control, se ha implementado un controlador de seguimiento.

Para el diseño y uso del algoritmo de control propuesto es necesario conocer la fuerza y el movimiento de interacción entre el paciente y el robot. Estos valores se pueden medir directamente a través de los sensores. Pero estos sensores, además de ser costosos, suelen añadir dificultades mecánicas y electrónicas. Por ello, en este trabajo la fuerza y el movimiento de contacto se estiman del modelo cinemático y dinámico del dispositivo UHP, así como de mediciones de sensores de bajo coste [5].

4. Implementación tiempo real

Con la intención de ejecutarlos en tiempo real, las tareas de rehabilitación y el algoritmo de control se han implementado en la plataforma CompactRIO de National Instruments (Figura 2).

Con el apoyo del interfaz gráfico de rehabilitación desarrollado, el terapeuta selecciona de forma fácil e intuitiva el ejercicio a ejecutar, la configuración mecánica adecuada (ARM o WRIST), la tarea deseada (asistido, corrector, resistido, etc.) y los parámetros de rehabilitación (tiempo del ejercicio, fuerza máxima, etc.). A partir de estos, el interfaz gráfico genera la posición deseada. Esta posición deseada, junto al resto de las variables, se transmite a la plataforma CompactRIO.

Al mismo tiempo, CompactRIO lee las mediciones de los sensores. Y después de filtrar y preprocesar las

mediciones, junto a los datos transmitidos por el interfaz gráfico, los introduce en las tareas de rehabilitación. A partir de estos datos, las tareas generan una consigna de fuerza/posición que transmiten al controlador que calcula el par que deben de realizar los motores.

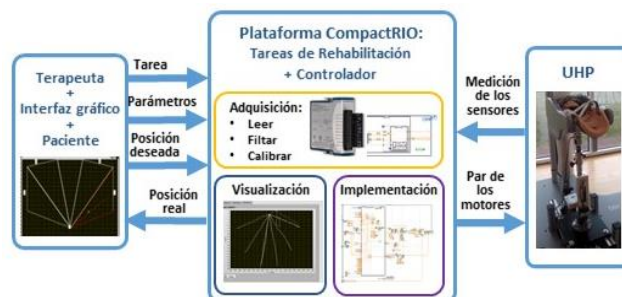


Figura 2: Diagrama de ejecución del robot UHP.

Además, gracias al modelo del robot, se estiman la posición y la fuerza de contacto entre el paciente y el dispositivo. Estos valores se visualizan en pantalla y se guardan en memoria. De esta forma, al finalizar el ejercicio, el terapeuta puede analizar el estado del paciente observando los valores almacenados. Al mismo tiempo, con la intención de facilitar la interacción con el usuario, la posición real se transmite al interfaz gráfico para que lo muestre en pantalla junto al movimiento deseado. De esta forma, el paciente puede observar en pantalla su posición actual y la deseada (Figura 2).

5. Experimentos de validación

Para demostrar el correcto funcionamiento del robot UHP, se han ejecutado más de 200 pruebas experimentales en las configuraciones ARM y WRIST. En este artículo se muestran los dos más significativas. Como el objetivo es validar el correcto funcionamiento y verificar que no realiza movimientos bruscos que puedan lesionar al usuario, las pruebas se han realizado con 30 personas sanas que han intentado reproducir diferentes estados de recuperación de enfermos con déficit motor.

En cada ensayo (Figuras 3 y 4), en la gráfica superior se detalla el punto deseado (\mathbf{x}_{Des}) y el movimiento real (\mathbf{x}_{Cn}) del robot. Y en la inferior se muestra la fuerza de interacción real (\mathbf{F}_{Cn}) y deseada (\mathbf{F}_{Des}) en la dirección de la trayectoria.

5.1. Tareas Asistidas. Configuración ARM.

En la Figura 3 se observan los resultados obtenidos de un ensayo en el modo *activo-asistido-pasivo* en la configuración ARM. El ensayo se ha programado de tal forma que se active el modo activo durante 7s (fondo azul), el asistido durante 4s (fondo morado) y el pasivo durante 3s (fondo verde). Además, se ha seleccionado que el movimiento de flexión (el de vuelta) se realice en modo *pasivo* (fondo blanco) con un periodo de 3s.

Como se puede ver, en los dos primeros movimientos de extensión el usuario ha finalizado el ejercicio sin asistencia externa (en modo activo, fondo azul). En las dos siguientes ha necesitado asistencia del robot (modo asistido, fondo morado). En las dos sucesivas, la asistencia no ha sido suficiente, y el robot ha tenido que finalizar el movimiento (modo pasivo, fondo verde).

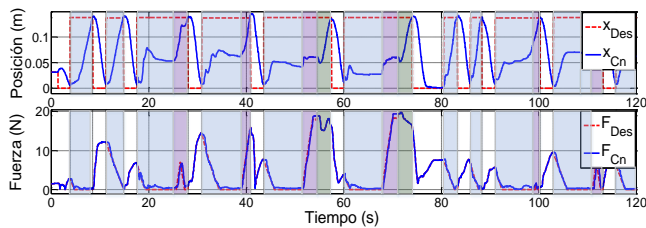


Figura 3: Ensayo en modo activo-asistido-pasivo en la configuración ARM. Con el fondo azul, morado y verde se destacan los modos activo, asistido y pasivo, respectivamente. El movimiento de flexión se observa en blanco.

5.2. Tareas Opositoras. Configuración WRIST.

En la Figura 4 se pueden ver los resultados obtenidos en un ensayo en modo *resistido* en la configuración WRIST. Como antes, se ha seleccionado que el movimiento de flexión se realice en modo *pasivo* (fondo blanco).

En el movimiento de extensión (modo resistido, fondo azul) el robot UHP ha presentado oposición a la finalización del ejercicio. La fuerza aplicada por el robot, es cero al inicio del movimiento ($x_{Cn}=0m$) y va aumentando hasta llegar a la posición deseada ($x_{Cn}=\pm 0.06m$).

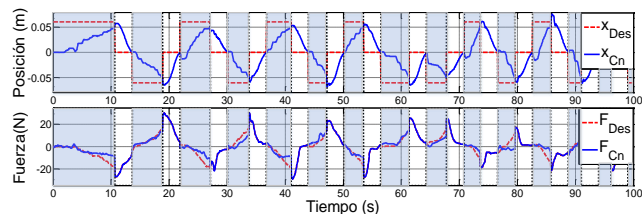


Figura 4: Ensayo en modo resistido en la configuración WRIST. Con el fondo azul se resalta el movimiento de extensión en modo resistido. El movimiento de flexión se observa en fondo blanco.

Después de ejecutar diferentes ensayos, los resultados muestran que el robot de rehabilitación UHP es capaz de generar los movimientos deseados siguiendo las consignas de fuerza definidos para cada ejercicio. Además, se ha observado que el UHP en ningún momento realiza ni sobreimpulsos ni movimientos bruscos. Por lo tanto, se concluye que el sistema de control desarrollado para la plataforma de rehabilitación basada en el robot UHP funciona correctamente en los diferentes modos necesarios para una terapia de rehabilitación óptima.

6. Conclusiones

En este artículo se ha presentado el robot UHP (Universal Haptic Pantograph) para la rehabilitación de los miembros superiores. Este robot, gracias a su estructura configurable, permite rehabilitar las articulaciones del miembro superior utilizando diferentes configuraciones mecánicas. En este trabajo se han analizado dos de los más demandados, ARM y WRIST.

Con el fin de adaptarse al estado de recuperación del paciente, se han definido diferentes tareas asistidas, correctoras y opositora. Además, con el objetivo de seguir las referencias generadas por las tareas de rehabilitación, se ha implementado un algoritmo de control avanzado que incluye tres controladores diferentes: el de impedancia, el de fuerza y el de posición.

Con el fin de validar el sistema de rehabilitación basado en el robot UHP, se han realizado diferentes ensayos experimentales. Los resultados han verificado que el sistema propuesto funciona correctamente con diferentes tareas de rehabilitación en las configuraciones ARM y WRIST. Por lo que se concluye que el UHP es un sistema de rehabilitación óptimo con capacidad de adaptarse al estado de recuperación de cada paciente.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad MINECO & FEDER en el marco del proyecto DPI-2012-32882, así como por la beca PRE-2014-1-152 y el proyecto IT914-16 del Gobierno Vasco, el proyecto PPG17/56 de la UPV/EHU y por Euskampus Fundazioa.

Además, los autores desean expresar su agradecimiento al centro de investigación TecNALIA por su colaboración y por prestar su robot de rehabilitación UHP.

Referencias

- [1] Molinari M, Esquenazi, Anastasi AA, Nielsen RK, Stoller O, D'Andrea A, Calatayud MB. Rehabilitation Technologies Application in Stroke and Traumatic Brain Injury Patients. *Biosystems & Biorobotics*. vol 10, pp 29-64, 2016 (ISBN: 978-3-319-24899-8).
- [2] Brackenridge J, Lynley VB, Lennon S, Costi JJ, Hobbs DA. A Review of Rehabilitation Devices to Promote Upper Limb Function Following Stroke. *Neuroscience and Biomedical Engineering*. vol 4, pp 25-42, 2016 (ISSN: 2213-3852).
- [3] Babaiasl M, Mahdioun SH, Jaryani P, Yazdani M, A review of technological and clinical aspects of robot-aided rehabilitation of upper-extremity after stroke. *Disability and Rehabilitation: Assistive Technology*. vol 11 (4), pp 263-280, 2016 (ISSN: 1748-3107).
- [4] Perry JC, Oblak J, Jung JH, Cikajlo I, Veneman JF, Goljar N, Bizoviar N, Matjai Z, Keller T. Variable structure pantograph mechanism with spring suspension system for comprehensive upper-limb haptic movement training. *Rehabilitation Research and Development*. vol 48(4), pp 317-334, 2011 (ISBN: 3494646090, ISSN: 0748-7711).
- [5] Mancisidor A, Zubizarreta A, Cabanes I, Bengoa P, Jung JH. Kinematical and dynamical modeling of a multipurpose upper limbs rehabilitation robot. *Robotics and Computer-Integrated Manufacturing*. vol 49, pp 374-387, 2018 (ISSN: 0736-5845).
- [6] Proietti T, Crocher V, Roby-Brami A, Jarrasse N, Upper-Limb Robotic Exoskeletons for Neurorehabilitation: A Review on Control Strategies. *IEEE Reviews in Biomedical Engineering*. vol 9, pp 4-14, 2016 (ISSN: 1937-3333).
- [7] Mancisidor A, Zubizarreta A, Cabanes I, Bengoa P, Jung JH. A Comprehensive Training Mode for Robot-Mediated Upper Limb Rehabilitation. *Converging clinical & engineering research on Neurorehabilitation II*. vol 15, pp 1169-1173, 2017 (ISBN: 978-3-319-46668-2).
- [8] Mancisidor A, Zubizarreta A, Cabanes I, Bengoa P, Jung JH. Interaction force and motion estimators facilitating impedance control of the upper limb rehabilitation robot. *International Conference on Rehabilitation Robotics (ICORR)*. pp 561-566, 2017 (ISBN: 978-1-5386-2296-4).

Virtual reality training platform for flexible ureterorenoscopy interventions with a minimally invasive surgical robot

M. Peral-Boiza¹, T. Gómez-Fernández¹, P. Sánchez-González^{2,3},
B. Rodríguez-Vila^{2,3,4}, E.J. Gómez^{2,3}, A. Gutiérrez¹

m.peral@alumnos.upm.es, teresa.gomezf@alumnos.upm.es, psanchez@gbt.tfo.upm.es,
borja.rodriguez@universidadeuropea.es, enriquejavier.gomez@upm.es, aguti@etsit.upm.es

¹ E.T.S. Ingenieros de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España

² Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, E.T.S. Ingenieros de Telecomunicación, Centro de Tecnología Biomédica, Madrid, España

³ Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, España

⁴ Universidad Europea de Madrid, Villaviciosa de Odón, España

Abstract

The total number of ureteroscopy (URS) interventions during the past years has dramatically increased due to the ongoing technological advances and the benefits associated with these techniques. However, the current URS procedure presents some drawbacks to urologic surgeons. The LITHOS project was created with the main objective of developing a surgical robotic system for flexible ureterorenoscopic lithotripsy interventions, offering a technological solution that meets the real needs of both patients and surgeons in this type of procedures. In this paper, a virtual reality environment for flexible ureterorenoscopy interventions is presented. The proposed environment provides a suitable training platform for surgeons manipulating the surgical robotic system.

1. Introduction

Minimally invasive surgery (MIS) involves surgical procedures that aim to cause less damage to human tissue than traditional open surgical techniques. It is performed through small incisions or trocars, so its advantages over traditional open surgery are numerous: shorter recovering periods, minor postoperative complications, less scarring, shorter hospital stays, reduced pain and lower morbidity rate [1].

Moreover, MIS indications are widely expanded in many medical areas and it provides an effective and safe alternative to traditional open surgery in different types of surgical interventions [2-4]. In addition, advances in surgical instrumentation, focused on constant equipment miniaturization and refinement, have contributed to reduce tissue damage during MIS procedures.

However, MIS also presents several drawbacks. The learning curve for most surgeons is longer when compared to open surgery, and these procedures can also present longer operating time and higher equipment costs [5]. The occasional possibility of conversion to an open procedure due to intraoperative complications can occur during MIS interventions. Moreover, ergonomics problems causing physical symptoms on surgeons have been repeatedly reported [6,7].

Robotics in surgery is also becoming an expanded technology. Computer-assisted manipulation offers greater precision and can increase the surgeon dexterity during minimally invasive procedures [5]. Some of them also include haptic feedback, which intensifies enormously the immersive experience of the surgeon in the actual intervention. The feasibility of robotic-assisted minimally invasive procedures has been demonstrated in different types of interventions [8].

Currently available surgical robotic systems for minimally invasive procedures are performing interventions in different clinical areas, such as laparoscopy, catheterization and ureterorenoscopy. The Da Vinci system (Intuitive Surgical Inc, CA, USA) is composed by four computer-manipulated robotic arms to operate the patient and a surgeon console provided with stereoscopic view. It has been demonstrated to offer advantages over traditional MIS interventions [9]. The TELELAP ALF-X surgical system (SOFAR S.p.A., ALF-X Surgical Robotics Department, Milan, Italy) provides a new robotic approach to minimally invasive procedures, offering haptic feedback and 3D vision to the surgeon. It comprises a remote control unit and a patient site with manipulator arms. Its feasibility and effectiveness in different MIS procedures have been reported [10]. The RAVEN Surgical Robot (University of Washington, WA, USA) is a robotic system for MIS procedures that provides haptic interaction. It includes the patient side with two articulated manipulators, and the surgeon site composed of two control devices and video display from the operation site. It has been used in several telesurgical experiments, obtaining successful outcomes [11]. The robotic Percutaneous Access to the Kidney (PAKY) device (The Johns Hopkins Medical Institutions, MD, USA) is comprised of a radiolucent, sterilizable needle driver located at the terminal end of a robot arm. Its accuracy and feasibility when combined with a remote center of motion (RCM) device have been determined in comparison to standard manual access [12]. The magnetic navigation system Niobe (Stereotaxis, MO, USA), for catheter interventions, is based on two computer-

controlled permanent magnets that are located on opposite sides of the patient, generating an external magnetic field that can be precisely manipulated [13]. The robotic catheter system Sensei X2 (Hansel Medical Inc, CA, USA) includes the Artisan Extend Control Catheter and a remote surgeon console with 3D imaging displays and a master input device. This system allows force feedback to the surgeon when performing surgical procedures. In addition, it was demonstrated that the Sensei system presents some benefits in ureterorenoscopic interventions compared to conventional procedures [14]. Finally, the Avicenna Roboflex (ELMED, Ankara, Turkey) is a robot specifically designed for flexible ureteroscopy. It is composed of the surgeon console and the manipulator of the flexible endoscope. Two joysticks and pedals, a wheel and a control monitor allow manipulating the endoscope from the remote unit. It was reported to be a suitable and safe system [15].

Although many robotic systems have been designed for MIS interventions, just a few of them are able to work on ureteroscopy. It is within this gap where the LITHOS project emerges.

2. LITHOS: robotic surgery for the treatment of renal calculi

Urinary lithiasis or urolithiasis refers to the presence of calculi in the urinary tract. This urologic disease presents a high morbidity rate in the world. One out of 11 individuals in the USA suffer from kidney stone disease at some point in their lives, being the prevalence of stones equals to 8.8% (10.6% for men and 7.1% for women) [16]. In addition, urolithiasis incidence rate in children has significantly increased in the last decades [17].

Urology recommendations state that open stone surgery has to be considered only in exceptional situations. The urolithiasis treatment recommendations included in the recent European Association of Urology (EAU) guidelines about renal and ureteral calculi have changed towards endourologic procedures, such as ureteroscopy (URS) and percutaneous nephrolithotomy (PNL), versus extracorporeal shockwave lithotripsy (SWL) [18].

The use of flexible ureteroscopy (fURS) has experienced determining improvements over the past years, including design modifications, miniaturization of the distal tip and deflection increase, along with new digital video technologies and intracorporeal lithotripsy devices [19]. These ongoing advances have led to an increase in the use of fURS and the expansion of its potential indications. It has been proved to be a safe and effective technique when performed with holmium laser lithotripsy in the treatment of urinary calculi, presenting high stone-free rate and low morbidity [20].

However, although ureteroscopy techniques offer many benefits from the patient perspective, they also present some drawbacks to urologic surgeons. This method involves serious ergonomics problems, as the surgeon has to stand during 3-4 hours interventions, holding the ureteroscope up and turning the head to look at the endoscopy and radiography screens. This position leads to

muscular pains, stiff joints and even tendonitis in wrist, forearm, arm and neck. Moreover, the endourologic surgeon is exposed to important doses of ionizing radiation from X-rays, used to acquire intraoperative images.

The LITHOS project objective is the design and development of a novel surgical remotely controlled robotic system for flexible ureterorenoscopic lithotripsy interventions. The final system is based on a multifunctional collaborative robot located in the patient site for the endoscope manipulation, which is teleoperated by the surgeon from a control panel. This two site approach provides the urologic specialists with a more ergonomic workspace, remote from radiation sources.

However, prior to the development and implementation of the robotic system, a training environment must be developed, so the learning curve of the surgeons can be reduced.

3. A virtual reality training platform for flexible ureterorenoscopy

The benefits of using surgical simulation in medical training have been repeatedly reported [21]. Its advantages generally include improvements in the efficiency and skills of the surgeon, learning curve reduction, improved educational experience, reduction in costs and easier access to different types of clinical scenarios.

Simulation platforms for ureterorenoscopy training have been previously developed. URO Mentor system (Symbionix, Tel Aviv, Israel) provides a platform for the simulation of rigid and flexible cystoscopic and ureterorenoscopic procedures [22]. The Scope Trainer (Mediskills Ltd., Edinburgh, United Kingdom) allows the user to simulate standard procedures, such as ureteral or renal intracorporeal lithotripsy [23].

In order to provide an effective training environment for surgeons manipulating the LITHOS final system for the first time, a virtual reality platform of flexible ureterorenoscopy was developed.

The motions of the flexible ureteroscope (rotation, insertion and flexion) are controlled remotely from the surgeon control panel and performed in the patient site by the final actuator system. According to the feedback provided by specialists in ureterorenoscopy interventions, separation between motions in different devices allows the surgeons to have a better control of the position of the endoscope distal tip. Therefore, two 3D mice are used as remote endoscope controllers in the surgeon panel. Equivalently, two 3D mice are used to manipulate the virtual training environment (see Figure 1).

Moreover, additional features such as laser activation for lithotripsy procedure or calculi fragmentation monitoring were developed.

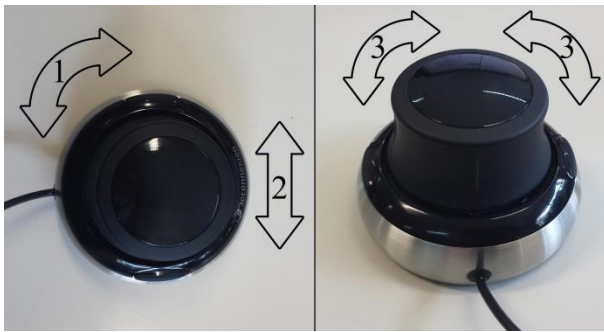


Figure 1. 3D mice used as endoscope controllers. On the left, 3D mouse for the left hand controlling rotation motion (1) and insertion motion (2). On the right, 3D mouse for the right hand responsible for flexion motion (3).

Rotation and insertion motions of the flexible endoscope are manipulated with the left 3D mouse, whereas flexion motion is controlled with the right one. The laser activation for lithotripsy is performed by pressing both side buttons of the right 3D mouse simultaneously, in order to minimize unintentional laser shots (see Figure 1).

The virtual system was developed using the C++ simulation framework CHAI3D [24], an open-source and multiplatform environment designed to integrate tactile and visual sensations in real time.

In order to simulate the flexible endoscope, the solid model was discretized in a finite number of solid elements (spherical nodes), as depicted in Figure 2.



Figure 2. On the left, the continuous flexible endoscope model; on the right, its discretization.

The flexible endoscope dynamic model has been developed based on the position based approach [25] and the shape matching method [26]. Vertical distance constraints and flexion angle constraints were established between the spherical nodes, as well as collision constraints. In order to test the correct performance of the simulated flexible endoscope, different tridimensional scenarios were created. Figure 3 shows the response of the endoscope model implemented in several environments.

For creating an accurate and realistic training platform, navigation through a three dimensional ureterorenal model was implemented. The 3D model was previously acquired with a CT scan on a real urinary tract.



Figure 3. Performance of the simulated endoscope model in three different scenarios.

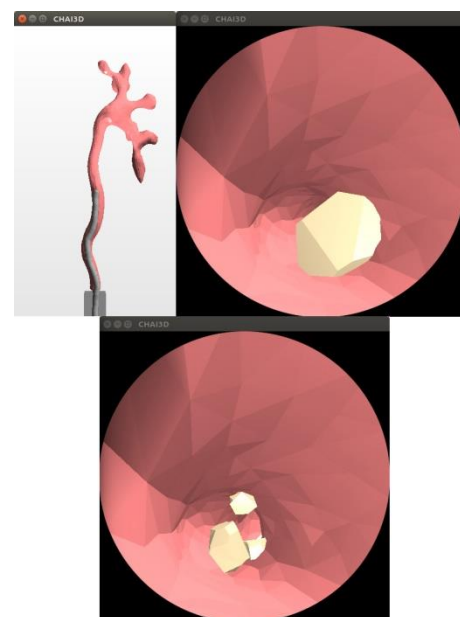


Figure 4. Implemented virtual reality environment user interface, including endoscopy (top-right and bottom) and radiography (top-left) screens and the simulation of the lithotripsy procedure.

The developed training platform provides two different views: the endoscope monitor displaying real time intraoperative images and a remote view of the patient body equivalently to the radiographic acquisition (see Figure 4). The equivalent X-rays view is only updated when required by the surgeon and allows the specialist to know the current exact location of the endoscope.

4. Conclusions

To offer a solution to the drawbacks associated to the conventional flexible ureterorenoscopy technique, the LITHOS project provides a novel system that allows the remote control of the flexible endoscope by the use of robotics as an alternative to this type of interventions, meeting the needs of both patients and surgeons.

The implemented training virtual platform for LITHOS project has been presented in this work. It replicates the same interface of the robotic system, including the endoscope controllers operated by the specialists and the lithotripsy procedure. The developed virtual environment offers a suitable tool for the training of urologic surgeons manipulating the LITHOS system in flexible ureterorenoscopy interventions for the first time.

Acknowledgements

This work was supported by the “Ministerio de Economía, Industria y Competitividad” within the framework of the project “LITHOS: Cirugía Robótica para el Tratamiento de Cálculos Renales” (RTC-2016-5338-1). Authors acknowledge support for Robotics Special Applications S.L., Vicomtech-IK4 and the Instituto de Investigación Sanitario Biodonostia.

References

- [1] JAFFRAY, B. Minimally invasive surgery. *Archives of disease in childhood*, 2005, vol. 90, no 5, p. 537-542.
- [2] SMITHERS, Bernard M., et al. Comparison of the outcomes between open and minimally invasive esophagectomy. *Annals of surgery*, 2007, vol. 245, no 2, p. 232.
- [3] LACY, Antonio M., et al. The long-term results of a randomized clinical trial of laparoscopy-assisted versus open surgery for colon cancer. *Annals of surgery*, 2008, vol. 248, no 1, p. 1-7.
- [4] GUILLOTREAU, Julien, et al. Radical cystectomy for bladder cancer: morbidity of laparoscopic versus open surgery. *The Journal of urology*, 2009, vol. 181, no 2, p. 554-559.
- [5] FUCHS, K. H. Minimally invasive surgery. *Endoscopy*, 2002, vol. 34, no 02, p. 154-159.
- [6] PARK, Adrian, et al. Patients benefit while surgeons suffer: an impending epidemic. *Journal of the American College of Surgeons*, 2010, vol. 210, no 3, p. 306-313.
- [7] MILLER, Kristen, et al. Ergonomics principles associated with laparoscopic surgeon injury/illness. *Human factors*, 2012, vol. 54, no 6, p. 1087-1092.
- [8] CADIÈRE, Guy-Bernard, et al. Feasibility of robotic laparoscopic surgery: 146 cases. *World journal of surgery*, 2001, vol. 25, no 11, p. 1467-1477.
- [9] MAESO, Sergio, et al. Efficacy of the Da Vinci surgical system in abdominal surgery compared with that of laparoscopy: a systematic review and meta-analysis. 2010.
- [10] FANFANI, Francesco, et al. The new robotic TELELAP ALF-X in gynecological surgery: single-center experience. *Surgical endoscopy*, 2016, vol. 30, no 1, p. 215-221.
- [11] LUM, Mitchell JH, et al. The RAVEN: Design and validation of a telesurgery system. *The International Journal of Robotics Research*, 2009, vol. 28, no 9, p. 1183-1197.
- [12] SU, Li-Ming, et al. Robotic percutaneous access to the kidney: comparison with standard manual access. *Journal of Endourology*, 2002, vol. 16, no 7, p. 471-475.
- [13] KIEMENEIJ, Ferdinand, et al. Use of the Stereotaxis Niobe® magnetic navigation system for percutaneous coronary intervention: Results from 350 consecutive patients. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 2008, vol. 71, no 4, p. 510-516.
- [14] DESAI, Mihir M., et al. Flexible robotic retrograde renoscopy: description of novel robotic device and preliminary laboratory experience. *Urology*, 2008, vol. 72, no 1, p. 42-46.
- [15] SAGLAM, Remzi, et al. A new robot for flexible ureteroscopy: development and early clinical results (IDEAL stage 1-2b). *European urology*, 2014, vol. 66, no 6, p. 1092-1100.
- [16] SCALES, Charles D., et al. Prevalence of kidney stones in the United States. *European urology*, 2012, vol. 62, no 1, p. 160-165.
- [17] ROUTH, Jonathan C.; GRAHAM, Dionne A.; NELSON, Caleb P. Epidemiological trends in pediatric urolithiasis at United States freestanding pediatric hospitals. *The Journal of urology*, 2010, vol. 184, no 3, p. 1100-1105.
- [18] TÜRK, Christian, et al. EAU guidelines on interventional treatment for urolithiasis. *European urology*, 2016, vol. 69, no 3, p. 475-482.
- [19] BEIKO, Darren T.; DENSTEDT, John D. Advances in ureterorenoscopy. *Urologic Clinics of North America*, 2007, vol. 34, no 3, p. 397-408.
- [20] BREDA, Alberto, et al. Flexible ureteroscopy and laser lithotripsy for multiple unilateral intrarenal stones. *European urology*, 2009, vol. 55, no 5, p. 1190-1197.
- [21] AL BAREEQ, Reem, et al. The role of surgical simulation and the learning curve in robot-assisted surgery. *Journal of robotic surgery*, 2008, vol. 2, no 1, p. 11-15.
- [22] MICHEL, Maurice Stephan, et al. The URO Mentor: development and evaluation of a new computer-based interactive training system for virtual life-like simulation of diagnostic and therapeutic endourological procedures. *BJU international*, 2002, vol. 89, no 3, p. 174-177.
- [23] WIGNALL, Geoffrey R., et al. Surgical simulation: a urological perspective. *The Journal of urology*, 2008, vol. 179, no 5, p. 1690-1699.
- [24] CHAI3D website. <http://www.chai3d.org/> (Accessed: September 2017).
- [25] MÜLLER, Matthias, et al. Position based dynamics. *Journal of Visual Communication and Image Representation*, 2007, vol. 18, no 2, p. 109-118.
- [26] MÜLLER, Matthias, et al. Meshless deformations based on shape matching. *ACM transactions on graphics (TOG)*, 2005, vol. 24, no 3, p. 471-478.

Neuromonitoring during Robotic Cochlear Implantation: first clinical experience

J. Ansó¹, O. Scheidegger², C. Dür³, W. Wimmer¹⁻³, K. Gavaghan¹, M. Caversaccio³, S. Weber¹

¹ ARTORG Center for Biomedical Engineering, University of Bern, Bern, Switzerland, juan.anso@artorg.unibe.ch

² Department of Neurology, Inselspital, University of Bern, Bern, Switzerland

³Department of ENT Surgery, Inselspital, University of Bern, Bern, Switzerland

Abstract

The aim of this study was to validate a neuromonitoring approach during a first robotic cochlear implantation clinical trial. It is hypothesized that multipolar neuromonitoring stimulus thresholds enable safe versus unsafe trajectory-to-nerve submillimeter distance assessment (95% confidence). In a total of $n = 6$ patients, after preoperative planning of a trajectory with sufficient distance to the facial nerve (> 0.4 mm), intraoperative robotic drilling was carried out following patient-to-preoperative image registration. Upon reaching the facial nerve (< 1.2 mm), a total of $m = 5$ neuromonitoring measurement points were assessed by direct stimulation using a multipolar probe inserted in drilled tunnel and recording elicited electromyogram signals. The neuromonitoring approach determined safe drilling distances (> 0.4 mm) in all cases based on a 0.3 mA stimulus threshold criteria (monophasic pulses, duration = 250 μ s). Postoperative drill-to-facial nerve distance assessment confirmed final drilled-tunnel-to facial nerve distances above 0.5 mm in all cases. The proposed neuromonitoring approach aided the surgeon in determining intraoperative safety distance margins to the facial nerve during robotic cochlear implantation.

1. Introduction

Robotic cochlear implantation (RCI) consists of image-guided and robot-assisted drilling of an access tunnel to the entrance of the cochlea followed by electrode insertion [1]. Because the procedure is performed via stereotactic guidance (Figure 1) and the surgeon does not have direct visual control of the critical anatomy, structures such as the facial nerve are at risk (Figure 2). The approach requires the robot-guided drill to pass at distances below 1 mm from the facial nerve and thus safety mechanisms for protecting this critical structure are required. Neuromonitoring is a commonly used tool to help surgeons locate the facial nerve during routine surgical procedures in the lateral skull base (e.g. mastoidectomy and cochlear implantation). During nerve monitoring, stimulation via a probe is used for localizing the course of the facial nerve in the mastoid region [2], [3]. The nerve monitoring system provides a functional signal (typically a stimulus threshold) that correlates with remaining bone thicknesses between the stimulating electrode and the nerve. Using available nerve monitoring systems, the variance in the estimation of facial nerve proximity ranges 0 to 3 mm, ten times higher than the required accuracy to enable robotic cochlear implantation (< 0.3 mm). Thus, conventional nerve monitoring systems are not sensitive and specific enough to enable reproducible facial nerve localization during stereotactic image-guided drilling in the mastoid.

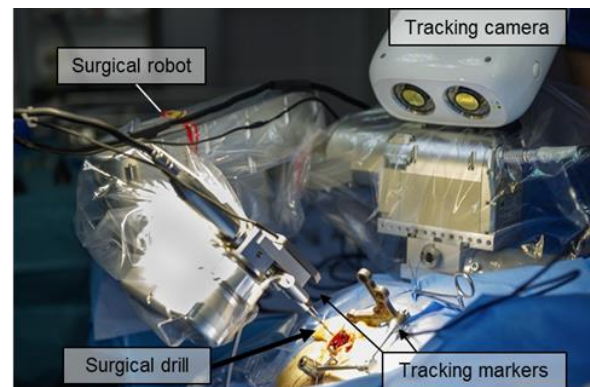


Figure 1. First-in-man robotic cochlear implantation trial.

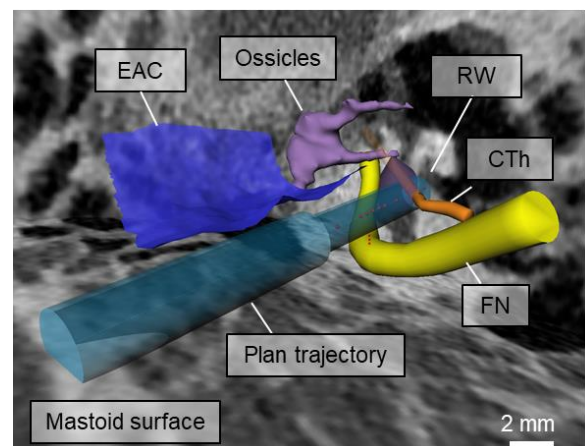


Figure 2. Preoperative planning to the entrance of the cochlea.

Our aim is to develop a safety approach based on electrical nerve stimulation that can be used to warn of an impending collision with the facial nerve during robotic cochlear implantation. To this end, different nerve monitoring systems and protocols have been proposed and developed in the past. First, a monopolar nerve stimulating drill was integrated with an image-guided robotic system and sensitivity and specificity to localize the facial nerve verified in-vivo (sheep model) [4]. It was concluded that the system and approach were not sensitive and specific enough to localize the facial nerve at distances below 2 mm from the drill trajectory. This was primarily due to uncontrolled leakage current through the tunnel achieved by use of uninsulated drill bits as monopolar stimulating electrodes. Consequently, a multipolar image-guided stimulating probe and nerve monitoring approach were developed for use during robotic cochlear implantation, and the sensitivity and specificity to localize the facial

nerve were assessed during in-vivo experiments ($n=5$ sheep, 29 trajectories). The system enabled sufficient sensitivity ($> 99\%$) and specificity ($> 95\%$) to detect imminent collisions with the facial nerve at drill distances below 0.1 mm [5]. Discrimination of drill to facial nerve distances from 0.1 to 0.5 mm remained unspecific ($< 95\%$). We argue that this is mainly due to patient-specific electrical properties of the mastoid, and hypothesize that electrical impedance models integrated in the image-guided nerve monitoring system may aid in reducing this uncertainty range.

Currently, a first-in-man clinical trial investigating robotic cochlear implantation is being carried out at the University Hospital of Bern [6]. Herein this work, the first clinical experiences using integrated neuromonitoring during RCI is presented. It is hypothesized that the NM system enables a sensitive and specific ($> 95\%$) drill-to-FN proximity assessment at submillimeter distances (< 0.5 mm).

2. Materials and methods

By measuring electromyogram signals in the facial muscles induced by electrical stimulation of the facial nerve through a dedicated stimulating probe, the distance of the trajectory to the facial nerve can be estimated to allow the drill path to remain within safe limits. In the worst-case scenario, the procedure can be aborted on the basis of the neuromonitoring data alone, before iatrogenic damage to the facial nerve would be sustained. Independent of all previously described safety mechanisms [7], [8], this system is therefore to be considered the so-called last line of defense. The system is based on a commercial electrical nerve stimulation and monitoring system (ISIS, inomed) and was modified and customized with a multipolar stimulation probe/protocol and proprietary software control system. This resulted in a dedicated RCI EMG system with the following specific functionalities:

- 1) Sensitivity monitoring of the nerve (i.e., positive control [9]): established through a pair of surface stimulation electrodes located on the superficial branch of the facial nerve (Figure 3). The stimulus threshold values are expected to be in the range of 20 to 50 mA (monophasic pulses, duration = 250 ms) and are dependent on the electrode-electrolyte and skin contact impedance.
- 2) Functional nerve status is continuously monitored via non electrically triggered EMG (free-running EMG) responses to detect weak anesthesia conditions and potential nerve irritation due to, for example, excessive mechanical pressure or temperature rise [9].
- 3) During drilling proximal to the facial nerve, the robot automatically evacuates from the drill tunnel, followed by manual insertion of the multi-electrode stimulation probe. Each of the four electrode configurations in the stimulation probe (B1 = C-A1, B2 = C-A2, B3 = C-A3, and monopolar = C-far field needle) (Figure 4) is then subject to an automatic stimulus threshold search. Stimulus threshold values above 1 mA indicate that remaining bone thickness between the drill trajectory and the facial nerve, whereas values below 0.3 mA

may indicate facial nerve dehiscence or absence of nerve bone covering. During electrical stimulation of the nerve, the amplitude of an electromyogram-elicited signal is expected to be above $100\ \mu\text{V}$ and is composed of a complex polyphasic muscle action potential response. The stimulus threshold is the minimum intensity of the stimulating pulses that provides an EMG signal above $100\ \mu\text{V}$. Upon verification of electrode-tissue contact ($Z < 20\ \text{kohm}$), a reference scale is consulted to estimate the proximity to the facial nerve and give the system a go/no go command by the surgeon. Given a positive margin, the next drilling segment is executed by Go, and the NM protocol is repeated with a final measurement as the facial nerve is cleared.

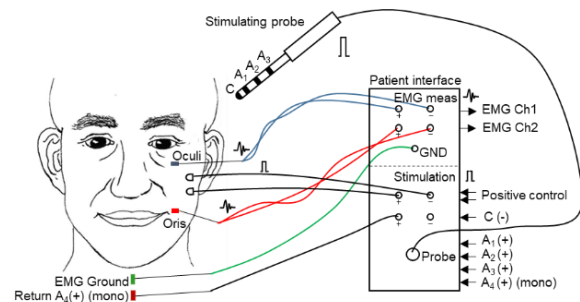


Figure 3. Electrode patient interface: EMG electrodes, stimulating probe, and positive control surface electrodes.

Safe vs. unsafe assessment based on triggered-EMG

Drill-to-FN distance based on NM measurements is determined at five consecutive measurement points equally spaced ($AD = 0.5\ \text{mm}$) through the facial recess (Figure 5). The first NM point P_1 is defined 1.2 mm in front of the FN center, and the last NM point P_5 at 0.9 mm passed the FN center. At each point, monophasic stimulating pulses (0.2 to 2.5 mA, 250 μs) are applied per each of the stimulating channels of the probe. The minimum stimulating intensity that elicits an EMG response above threshold ($> 100\ \mu\text{V}$) is defined as stimulus threshold (ST). From previous in-vivo experimental studies [5], the stimulus threshold capable of discriminating *safe* and *unsafe* drill-to-FN proximity ranges below 0.6 mm was 0.3 mA. Consequently, bipolar (B_{1-2}) stimulus thresholds equal or above 0.35 mA are used as indication of sufficient drill-to-FN distance greater than 0.4 mm (*safe passage*). On the other hand, bipolar stimulus thresholds below 0.35 (B_1) indicate an *unsafe* (< 0.1 mm), or an uncertain (B_{1-2}) drill-to-FN distance margin (0.1- 0.4 mm) (as defined in [1]).

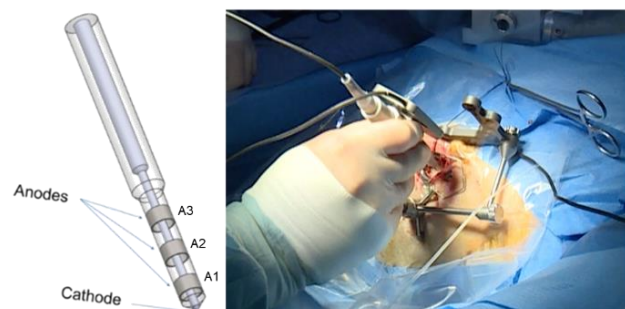


Figure 4. Stimulating-navigated probe as being inserted in the tunnel previous to start measurement of the next NM point.

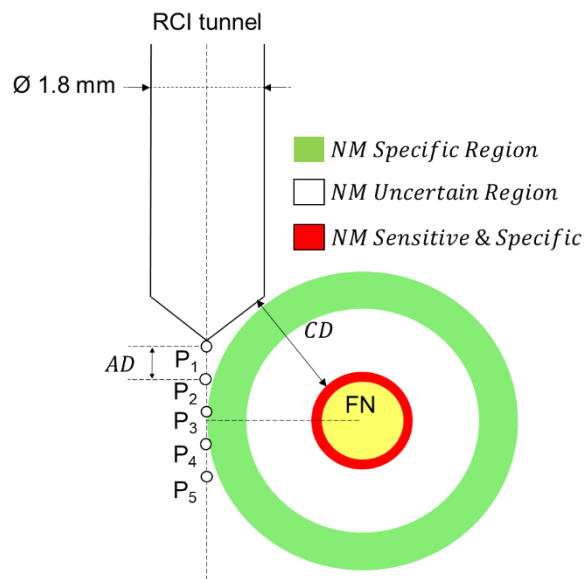


Figure 5. Discretized NM measuring points as defined along the trajectory at reaching the facial recess. Safe (green), unsafe (red) and uncertain (white) regions are depicted.

3. First clinical RCI cases

After approval of the local ethics commission (IRB Bern, Switzerland, KEK-BE Nr.156/13) a first RCI clinical trial is undergoing at the university hospital of Bern [5]. The RCI procedure started with implantation of four fiducial screws (2.2mm × 5mm, M-5243.05, Medartis) in the mastoid of the patient. Thereafter a computer tomography scan was acquired (SOMATOM, Siemens) and a trajectory planned to the entrance of the cochlea. Then, via utilization of a non-invasive head-rest, the patient's head was fixed to the operation bed. The electromyogram (EMG) measuring electrodes were located in the facial muscles (orbicularis oris and oculi). The surface stimulating electrodes were positioned on the superficial branch of the FN (*positive control*). The positive control was executed and a minimum EMG amplitude level of 200 μ V was verified. Confirmation of the positive control lead to draping of the patients' surgical site. Then, a reference marker (Figure 1) was fixed in the patient's mastoid to enable tracking of head movements during the robotic drilling operation. After physical registration of the mastoid to the preoperative plan via the implanted fiducial screws, RCI drilling was initiated up to 3 mm before the FN (1000 RPM, 0.5 mm/s, 2 mm pecking steps, \varnothing 1.8 mm). At this level, a radiologic safety confirmation of the drilled axis was achieved via intraoperative CT imagery (xCAT, Xoran). Thereafter, a temperature minimization drilling protocol (0.5 mm pecking steps) was initiated towards the critical drilling segment (drill-to-FN distances < 2mm) and *safe vs. unsafe* trajectories were determined based on the NM approach.

Data analysis

Drill-to-FN distance assessment was determined from postoperative CT images co-registered to the preoperatively determined (plan) facial nerves. For each measurement point, the Euclidian distance from the drill to

the FN surface was defined as closest distance (CD). A sensitivity and specificity analysis was done assessing the stimulus thresholds and postoperative minimum distance from the drill tunnel to the facial nerve (CD_{min}).

4. Results

To date, a total of $n = 6$ patients have been operated using the developed robotic cochlear implantation system. The RCI-NM approach was successfully applied in all $n = 6$ patients. In one of the patients (subject 2), the RCI procedure had to be reverted to conventional CI. The reason of this event was a work-flow issue related to limited work-space of an intraoperative imaging system used to verify axis accuracy before reaching the FN.

In the $n = 5$ completed RCI cases, the NM approach suggested safe drill-to-FN distance margins in all cases (Table1). From the postoperative assessment, the minimum drill-to-FN distance margins were in agreement with the intraoperatively suggested margins (> 0.4 mm).

A representative facial recess neuromonitoring case is shown in Figure 6. It can be observed, a decrease in stimulus thresholds (monopolar) at the closest drill-to-FN distance plane. Subsequently, intensity increases again by passing the closest FN center plane ($CD_{min} = 0.68$ mm).

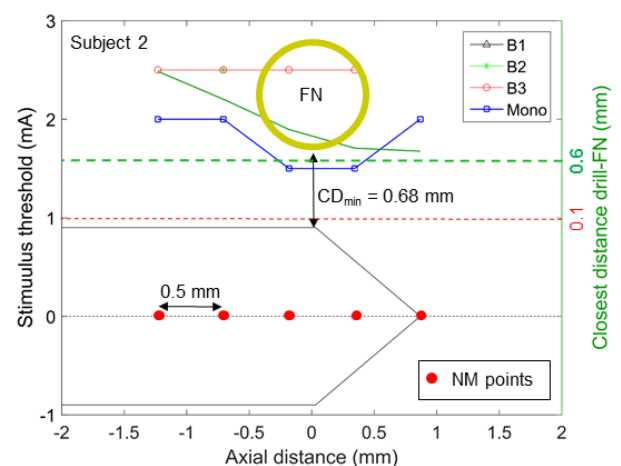


Figure 6. Postoperative co-registered stimulus thresholds (subject 2) relative to the axial NM measurement points.

Table 1. Postop stimulus threshold to FN distances assessment.

Subject	Min. stimulus threshold (mA)				FN-NM distance (mm)	CD_{min} (mm)
	B1	B2	B3	Mo.		
1	NR	NR	-	2	> 0.7	0.82
2	NA	NA	NA	NA	NA	NA
3	NR	2.5	2.5	1.5	> 0.7	0.67
4	NR	NR	-	2	> 0.7	0.78
5	1.25	0.5	0.3	0.3	> 0.4	0.61
6	NR	1.25	1.25	1	> 0.7	0.58

NA: not applicable, patient converted to conventional CI

NR: no EMG response, stimulus threshold > 2.5 mA

- : anode channel presented high impedance ($Z > 20$ kohm)

5. Discussion

During these initial RCI cases, our proposed NM approach was able to confirm sufficient drill-to-FN distance margins (> 0.4 mm). Further validation of the nerve monitoring protocol during image-guide robotic cochlear implantation is necessary for verification of stimulus threshold values at the critical facial nerve distance range (< 0.3 mm). The results were consistent with in-vivo (sheep) experimental data at drill-to-facial nerve distance ranges above 0.4 mm, as reported in [5].

During the first RCI clinical trial trajectories are planned at drill-FN distances of at least 0.4 mm to minimize nerve risk in case of unexpected system error. Therefore acquisition of NM data at the critical distance range (< 0.3 mm) may not be possible, assuming system errors within 2 sigma (i.e. $< 0.15 \pm 0.08$, as suggested in [10], [11]).

To validate critical distance range stimulus threshold in human mastoid, we propose to use our navigated neuromonitoring stimulating system (modified approach) during middle ear surgeries. For instance, stimulus thresholds at a dehiscence facial nerve, i.e. no remaining bony cover, are expected to range 0.1 mA to 0.4 mA [2], whereas a bony covered facial nerve (intact fallopian canal), i.e. with at least a thin layer of bone cover, thresholds above 0.4 mA are to be expected [12]. Currently, to enable determination of the NM algorithm performance at critical distance range (< 0.3 mm), a prospective in-vivo validation is underway.

Acknowledgements

The authors acknowledge Prof. Thomas Nevian and Prof. Kai Rösler for guidance with electrophysiology aspects related to the neuromonitoring protocol. The authors also thank Prof. Frank Forterre, Dr. Christina Precht-Stahl and Dr. Helene Rohrbach for support during extensive in-vivo validation studies.

This work was supported by the Swiss National Science Foundation (project NCCR Co-Me), the Swiss Commission for Technology and Innovation (project MIRACI 17618.1), the European Commission (project HEAR-EU, 304857), the Swiss Nano-Tera initiative (project HearRestore), MED-EL GmbH (Innsbruck, Austria), and CAScination AG (Bern, Switzerland)

References

- [1] S. Weber, K. Gavaghan, W. Wimmer, T. Williamson, N. Gerber, J. Anso, B. Bell, A. Feldmann, C. Rathgeb, M. Matulic, M. Stebinger, D. Schneider, G. Mantokoudis, O. Scheidegger, F. Wagner, M. Kompis, and M. Caversaccio, "Instrument flight to the inner ear," *Sci. Robot.*, vol. 2, no. 4, p. eaal4916, Mar. 2017.
- [2] H. Silverstein, E. Smouha, and R. Jones, "Routine identification of the facial nerve using electrical stimulation during otological and neurotological surgery.," *Laryngoscope*, vol. 98, no. 7, pp. 726–30, Jul. 1988.
- [3] D. Bernardeschi, N. Meskine, N. Al Otaibi, R. Ablonczy, M. Kalamarides, A. B. Grayeli, and O. Sterkers, "Continuous facial nerve stimulating burr for otologic surgeries.," *Otol. Neurotol.*, vol. 32, no. 8, pp. 1347–51, Oct. 2011.
- [4] J. Ansó, C. Stahl, N. Gerber, T. Williamson, K. Gavaghan, K. M. Rösler, M.-D. Caversaccio, S. Weber, and B. Bell, "Feasibility of Using EMG for Early Detection of the Facial Nerve During Robotic Direct Cochlear Access.," *Otol. Neurotol.*, vol. 35, no. 3, pp. 545–54, Mar. 2014.
- [5] J. Ansó, C. Dür, K. Gavaghan, H. Rohrbach, N. Gerber, T. Williamson, E. M. Calvo, T. W. Balmer, C. Precht, D. Ferrario, M. S. Dettmer, K. M. Rösler, M. D. Caversaccio, B. Bell, and S. Weber, "A Neuromonitoring Approach to Facial Nerve Preservation During Image-guided Robotic Cochlear Implantation," *Otol. Neurotol.*, vol. 37, no. 1, pp. 89–98, 2016.
- [6] M. Caversaccio, K. Gavaghan, W. Wimmer, T. Williamson, J. Ansó, G. Mantokoudis, N. Gerber, C. Rathgeb, A. Feldmann, F. Wagner, O. Scheidegger, M. Kompis, C. Weisstanner, M. Zoka-Assadi, K. Roesler, L. Anschuetz, M. Huth, and S. Weber, "Robotic cochlear implantation: surgical procedure and first clinical experience.," *Acta Otolaryngol.*, vol. 137, no. 4, pp. 447–454, Apr. 2017.
- [7] T. Williamson, B. Bell, N. Gerber, K. Gavaghan, J. Anso, L. Salas, M. D. Caversaccio, and S. Weber, "Multi - Level Safety Concept for Robot Assisted ENT Surgery," in *Annual Conference of the German Society for Computer and Robot assisted Surgery, CURAC*, 2012.
- [8] T. M. Williamson, B. J. Bell, N. Gerber, L. Salas, P. Zysset, M. D. Caversaccio, and S. Weber, "Estimation of tool pose based on force-density correlation during robotic drilling.," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 60, no. 4, pp. 969–76, Apr. 2013.
- [9] N. R. Holland, "Intraoperative electromyography.," *J. Clin. Neurophysiol.*, vol. 19, no. 5, pp. 444–453, 2002.
- [10] B. Bell, N. Gerber, T. Williamson, K. Gavaghan, W. Wimmer, M. Caversaccio, and S. Weber, "In Vitro Accuracy Evaluation of Image-Guided Robot System for Direct Cochlear Access.," *Otol. Neurotol.*, vol. 34, pp. 1284–1290, Aug. 2013.
- [11] T. Williamson, K. Gavaghan, N. Gerber, S. Weder, L. Anschuetz, F. Wagner, C. Weisstanner, G. Mantokoudis, M. Caversaccio, and S. Weber, "Population Statistics Approach for Safety Assessment in Robotic Cochlear Implantation.," *Otol. Neurotol.*, vol. 38, no. 5, pp. 759–764, Jun. 2017.
- [12] Y. H. Choung, K. Park, M. J. Cho, P. H. Choung, Y. R. Shin, and H. Kahng, "Systematic facial nerve monitoring in middle ear and mastoid surgeries: 'Surgical dehiscence' and 'electrical dehiscence,'" *Otolaryngol. - Head Neck Surg.*, vol. 135, no. 6, pp. 872–876, 2006.

Planificación y simulación quirúrgica

Jueves, 30 de Noviembre

Automatic detection of surgical instruments' state in laparoscopic video images using neural networks

C. Martín Vicario¹, I. Oropesa¹, J.A. Sánchez Margallo²,
F.M. Sánchez Margallo², E.J. Gómez^{1,3}, P. Sánchez-González^{1,3}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación, Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid, España celia.martinvic@alumnos.upm.es, {ioropesa, egomez, psanchez}@gbt.tfo.upm.es

² Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, Spain; {jasanchez, msanchez}@ccmijesususon.com

³ Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Spain

Abstract

Software-based solutions such as virtual reality simulators and serious games can be useful assets for training minimally invasive surgery technical skills. However, their high cost and lack of realism/fidelity can sometimes be a drawback for their incorporation in training facilities. In this sense, the hardware interface plays an important role as the physical connection between the learner and the virtual world. The EVA Tracking System, provides computer vision-based information about the position and the orientation of the instruments in an expensive and unobtrusive manner, but lacks information about the aperture state of the clamps, which limits the system's functionalities. This article presents a new solution for instrument's aperture state detection using artificial vision and machine learning techniques. To achieve this goal, videos in a laparoscopic training box are recorded to obtain a data set. In each frame, the instrument clamp is segmented in a region of interest by means of color markers. The classifier is modeled using an Artificial Neural Network. The trained prediction model obtains accuracy results of 94% in the validation dataset and an error of 6% in independent evaluation video sequences. Results show that the model provides a competent solution to clamp's aperture state detection. Future works will address the integration of the model into the EVA and a virtual environment, the KTS serious game.

1. Introduction

Training of technical skills required for minimally invasive surgery (MIS) has advanced from mentor-apprentice model towards structured learning programs priming patient safety. The execution of real surgeries is delayed until surgeons have acquired the necessary skills in a patient-free laboratory. These laboratories allow surgeons to train MIS skills in an efficient, effective and safe environment using mannequins, box trainers or virtual reality (VR) systems [1].

The use of software-based solutions has become a major trend in MIS technical skills learning. VR simulators offer a standardized and safe environment to simulate tasks and to practice skills necessary in the operating room (OR), and have the advantage of measuring the surgeon's performance, which enables a real-time feedback. Another variant of software-based learning are serious games, interactive computer applications with a challenging goal which provide the user with skills, knowledge and attitudes that are useful in real life [2].

One such example of a virtual training environment is the Kheiron Training System (KTS) serious game [3]. KTS combines a box trainer and a video game (Fig. 1A) in order to provide residents and medical students a tool which allows them to train basic laparoscopic technical skills. The player plays the role of a young wizard searching for the Philosopher's Stone and is requested to complete a set of tasks which mimic the movements required in MIS procedures.

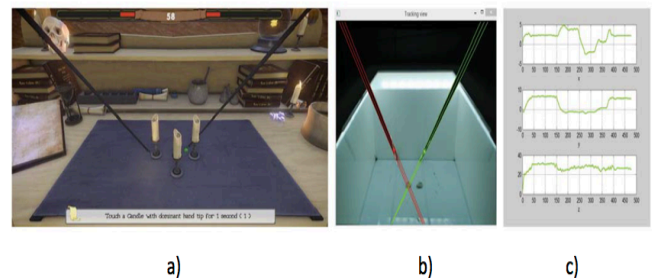


Figure 1 KTS Serious game [3] and EVA tracking system [4] a) Graphic interface of KTS videogame b) Tracking of instruments inside the training box using EVA Tracking System c) Final path followed by instruments performing a task.

Virtual environments require a hardware interface to connect the learner and the virtual world with the greatest possible fidelity to the OR environment. The physical connection is achieved using active sensors; affixing magnetic, mechanical or optical devices to real laparoscopic instruments. However, since these disturb the instruments' ergonomics, new techniques are being applied. This problem is solved using video-based tracking of laparoscopic instruments [2], which applies computer vision techniques to track instruments and perform motion analysis by means of laparoscopic video images.

The KTS serious game is designed to be controlled using real laparoscopic instruments (Fig. 1B). Instrument tracking is carried out using the EVA Tracking System [4]. EVA Tracking System is employed to provide real time information on the position of the laparoscopic instruments and send the coordinates to the game in order to control movements of the wands. EVA is a computer vision-based tracking system that obtains the instrument tip position (Fig. 1C) based solely on the intrinsic camera parameters and the geometrical properties of the instruments without the need of external sensors [4].

KTS provides an economical, portable and innovative approximation to laparoscopic training. Integration of EVA adds an inexpensive interaction mechanism, allowing the use of real laparoscopic instruments without significant ergonomic modifications. The main disadvantage of this system is that it lacks information about the clamp's aperture or rotation state which limits the system functionality.

To our knowledge, only one study reports a solution to the detection of the clamps' aperture. Sahu et al. [5] developed a technique that uses the aperture state of the clamp to move the laparoscopic camera. In this work, a classification model is built using decision trees and boosting. Reported accuracy values are above 95% in ex vivo scenarios. However, the study only uses clamp states that are completely open or closed and with its aperture state perfectly distinguishable.

The goal of this work is to apply computer vision techniques in order to track the laparoscopic instruments and to develop machine learning algorithms in order to detect the clamp's aperture state in any position of aperture and rotation. In this way, our ultimate goal is to develop an expanded version of the EVA Tracking System not only able to transmit the instruments' spatial coordinates to KTS, but also the current state of its clamps.

2. Material and Methods

2.1. Material

This work is carried out with a personal computer with an intel core i5 2GHz processor and 8GB RAM Memory which allows to program in C++ coding language. Moreover, Boost and OpenCV libraries are used to handle all image and video processing functionalities. To obtain the image set that will serve to train the model, some videos are recorded using the KTS physical environment. This includes a training box, a white box, a webcam in a fixed position and laparoscopic instruments.

Laparoscopic instruments are labeled with color markers in order to track them by means of video processing techniques. The left instrument is labeled with a yellow marker and the right instrument with a green marker.

2.2. Methods

In this work, a neural network model is trained with the goal of classifying the clamps' aperture state. This is achieved following the steps that are represented in Fig. 2.

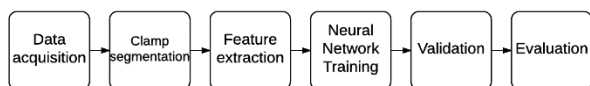


Figure 2. Steps followed in the implementation, validation and evaluation of the neural network.

Data acquisition. Images that form the dataset are acquired from videos recorded in the KTS physical environment. In the process of video recording, a rigorous protocol is applied to maximize the diversity of clamps' positions. Due to the nature of the classifier, every image has to be labeled as *close* or *open*.

Clamp segmentation. Every frame is segmented in a region of interest using the color markers that are placed on the instrument. The region of interest is a window (140x150 pixels) defined around the marker center. The use of this region is justified on two reasons; 1) the information about the clamp state is in this region and 2) processing time is reduced when we minimize the image size.

In order to carry out the segmentation, first it is necessary to carry out a calibration of segmentation parameters [4]. The parameters are saved in a .xml file that will be loaded to segment the image, obtain the region of interest and save it to generate the image dataset (Fig. 3).

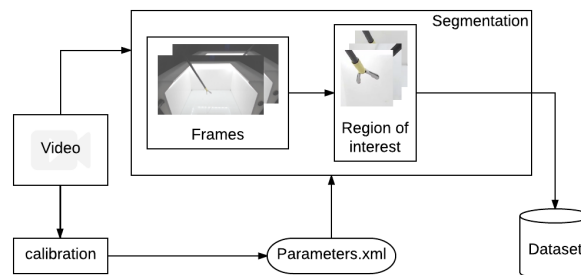


Figure 3 Process of obtaining the region of interest as a result of image segmentation.

Feature extraction. In this work the KAZE method [6] is used to extract and describe characteristics from the image. In order to obtain a single vector of characteristics with a fixed dimension, Bag of Words (BOW) technique is applied to KAZE method results [6].

Local characteristics which are obtained with KAZE cannot serve as input for neural networks since the number of descriptor vectors varies. KAZE method is applied to detect and describe characteristics and BOW technique turns a changing number of descriptor vectors into a single vector with constant dimensions. The obtained vector will serve as input for the classifier model.

Neural network training. The classifier model employed is a neural network [7]. In particular, the model is a multilayer perceptron, a supervised learning algorithm. It consists on an input layer, one or more hidden layers and an output layer. Different neural networks are modeled by varying the number of layers and the layer size in order to find the neural network with the best performance.

In addition to a single model, the aggregation of models or bagging technique is applied; three neural networks are aggregated with the objective to improve accuracy. Each neural network is trained separately and has the same weight [8].

Neural network validation. To validate the classifier model, 10-fold cross validation method is applied.

Evaluation. With the goal of evaluate the final trained neural network, an evaluation script is created. This script allows to open a previously recorded video or a live video obtained from the simulator's webcam. Once the video is open, the whole image is segmented in the region of interest, the characteristics are obtained from the images

using KAZE method and BOW technique, and the clamps' state is predicted when the characteristics are introduced in the trained neural network.

Once the predicted class is obtained, a condition of transition between states is applied. The condition imposes that at least 4 consecutive frames have to be in a different state from the actual state. The actual state is shown in a label in the region of interest (Fig.4).



Figure 4. Example of regions of interest that are labeled with its predicted state.

3. Results

3.1. Dataset

After processing the videos, a repository with 8949 labeled images are obtained. The number of right/left and closed/open clamps are balanced, as can be observed in Table 1.

	Open	Close	TOTAL
Right	2230	2086	4316
Left	2449	2184	4633
TOTAL	4679	4270	8949

Table 1. Image distribution in the dataset

3.2. Neural network complexity

The complexity of the neural network is defined by the number of layers and the size of its layers. The neural network has an input layer, an output layer and a single hidden layer, following the results of preliminary tests carried out during the training phase.

The output layer has only two neurons due to the fact that prediction model has only two possibilities: open or closed. However, the network input size has to be defined. For this purpose, several cases were tested. The result is represented in the graph in Fig. 5.

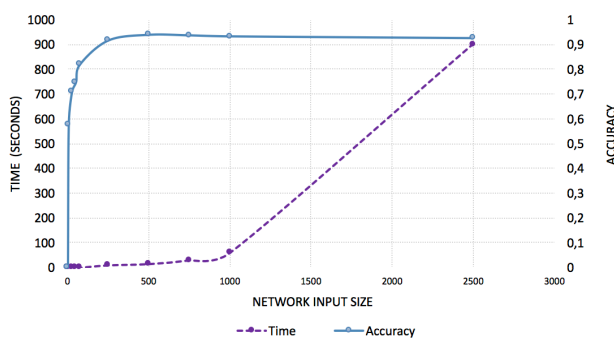


Figure 5. Accuracy and time vs. Network input size

Initially, the accuracy grows substantially when the number of neurons rises and reaches a maximum in 500

neurons with 94% accuracy. After that, the accuracy does not improve when the network input size increases.

Another aspect that has been considered is training time (Fig. 5): neural networks with less than 1000 neurons as network input size have a training time under 1 minute. Taking into account every factor, we choose a neural network with 500 neurons in the input layer.

3.3. Learning curve

Figure 6 represents the training error and the cross-validation error when the model is trained with different number of images. The bias and the variance are low and the curve has an asymptotic behavior, so the number of images that comprise our dataset is enough and increasing the dataset will not decrease the error significantly.

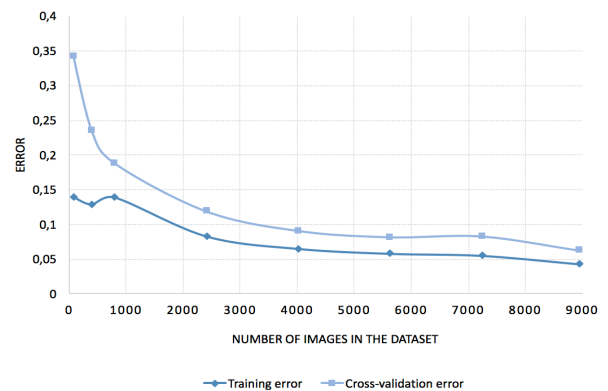


Figure 6. Learning curve. Training error and cross validation error vs. the number of images that are used to train the neural network..

3.4. Bagging

Aggregation of models improve performance compared to a simple model when the neural network has low complexity (Fig. 7). However, for a network input size of 500 neurons, the aggregated model does not improve the accuracy of the simple model.

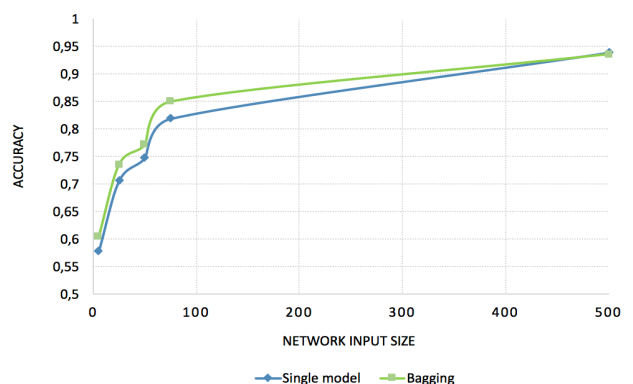


Figure 7. Accuracy of aggregation of models vs. single model

3.5. Evaluation

After we have defined all the parameters from the neural network, several tests have been carried out with our evaluation script. New videos were recorded in the KTS box trainer setting. The clamp state was predicted for every frame and displayed in the region of interest (Fig. 8). The

script works with a single instrument or with both of them simultaneously.



Figure 8. Screenshot of an evaluation with two laparoscopic instruments, showing the complete image and regions of interest labeled with the current predicted state of clamps' aperture.

To test how the transition condition affects the performance of the whole model, 3 new videos are employed, counting the number of frames that are incorrectly classified with and without the condition (Table 2). As a result, we obtained that the condition reduces the errors in 37.5 %.

Video	%Errors without condition	%Errors with condition	%Error reduction	
Left instrument	7.65	4.74	38.1	
Right instrument	14.07	8.95	36.4	
Both instruments	Left	8.3	5.62	32.5
	Right	7.2	4.42	39.1
Total	9.6	6.0	37.5	

Table 1: Evaluation results on new video sequences

The transition condition introduces a delay of 0.1 seconds that is hardly detectable. However, in some cases, the use of only 4 frames is not enough to avoid errors, especially in some positions of clamp rotation.

4. Discussion

The results from validation and evaluation show the feasibility of using an artificial neural network to implement a model that automatically detects the state of a laparoscopic instrument with a high accuracy. In our experiments, the highest accuracy (94%) is reached with a neural network with a single hidden layer and 500 neurons in its input layer. The results that we have obtained are similar to those obtained by Sahu et al. [5], but our work has the advantage of employing images of clamps in any state of aperture or rotation.

The model performs well in new sequences recorded in the box trainer. The transition condition that is imposed reduces the number of erroneously classified frames from 9.6 to 6%; however, it adds a delay that may end up

affecting real time performance in a virtual scenario such as KTS. Because of that, a balance between accuracy and delay has to be established. Another possibility is to add a dynamic transition condition.

Training a new model with a larger database would not likely increase the accuracy. The obtained dataset with 8949 images is shown to be sufficient. Moreover, we have proven that aggregation does not improve model' performance. Instead of adding more images to the dataset, a possible improvement would be to maximize the number of positions in which the clamp is recorded.

The next steps in this work include developing new solutions to address the problem of rotation. This is necessary to provide a full, high fidelity experience to trainees and surgeons training in virtual scenarios such as KTS. Parallel to this, we will integrate the trained model in the EVA Tracking System-KTS serious game. This will allow us to validate the performance of the model in an actual training environment with real surgeons.

5. Conclusion

We have presented an approximation to detect the clamp's aperture state in laparoscopic instruments using computer vision and machine learning techniques. The integration of this information will allow to increase the fidelity of software-based surgical training systems, such as, but not limited to, the KTS serious game.

References

- [1] Hiemstra E. Acquiring Minimally Invasive Surgical Skills. Leiden: Department of Minimally Invasive Surgery in Gynaecology, Faculty of Medicine/Leiden University Medical Center (LUMC), Leiden University, 2012
- [2] I. Oropesa *et al.*, «Methods and Tools for Objective Assessment of Psychomotor Skills in Laparoscopic Surgery», *J. Surg. Res.*, vol. 171, n.º 1, pp. e81-e95, 2011.
- [3] L. F. Sánchez Peralta *et al.*, «Serious game for psychomotor skills training in minimally invasive surgery: Kheiron Training System», en *XXXIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2015)*, Madrid, Spain, 2015, pp. 439-442.
- [4] I. Oropesa *et al.*, «Controlling virtual scenarios for minimally invasive surgery training using the EVA Tracking System», en *XXXIII Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica (CASEIB 2015)*, Madrid, Spain, 2015, pp. 431-434.
- [5] M. Sahu, D. Moerman, P. Mewes, P. Mountney, and G. Rose, «Instrument State Recognition and Tracking for Effective Control of Robotized Laparoscopic Systems», *Int. J. Mech. Eng. Robot. Res.*, 2016.
- [6] P. F. Alcantarilla, A. Bartoli, and A. J. Davison, «KAZE Features», en *Computer Vision – ECCV 2012*, 2012, pp. 214-227.
- [7] S. S. Haykin, *Neural networks and learning machines*, 3rd ed. New York: Prentice Hall, 2009.
- [8] J. Zhang, «Developing robust non-linear models through bootstrap aggregated neural networks», *Neurocomputing*, vol. 25, n.º 1, pp. 93-113, abr. 1999.

Cirugía pancreática laparoscópica y por puerto único guiada por fluorescencia: Modelo de tumor pancreático, dosis y abordaje quirúrgico

F. M. Sánchez-Margallo¹, J. A. Sánchez-Margallo²

¹ Unidad de Laparoscopia, Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España, msanchez@ccmijesususon.com

² Unidad de Bioingeniería y Tecnologías Sanitarias, Centro de Cirugía de Mínima Invasión Jesús Usón, Cáceres, España, jasanchez@ccmijesususon.com

Resumen

La resección pancreática laparoscópica es un procedimiento complejo, para la cual el entrenamiento quirúrgico con modelos pancreáticos fiables es fundamental. Durante esta cirugía, el uso de técnicas de imagen preoperatoria permiten mejorar su planificación, pero el traslado al campo operatorio presenta varias limitaciones. Por consiguiente, resulta conveniente analizar nuevas técnicas de imagen intraoperatoria como es la imagen por infrarrojos cercanos. Los objetivos de este estudio son: el desarrollo de un modelo porcino de tumor pancreático; analizar la viabilidad en el uso de este modelo durante cirugía de páncreas por abordaje laparoscópico y por puerto único; y analizar la utilidad de la imagen por infrarrojos cercanos durante la cirugía de resección pancreática, definiendo la dosis adecuada de verde de indocianina para el modelo porcino. Se presenta de forma satisfactoria el desarrollo de un modelo porcino de tumor pancreático como herramienta de utilidad tanto para la formación en procedimientos de resección pancreática como para estudios de investigación en diagnóstico y cirugía en tumores pancreáticos. Se ha demostrado la viabilidad en el uso de este modelo de tumor durante la pancreaticoduodenectomía laparoscópica y la pancreatectomía parcial por puerto único. Por otro lado, se establece la dosis de verde de indocianina para la adecuada visualización tanto de la anatomía biliar como pancreática en modelo porcino. La técnica de imagen por infrarrojos cercanos podría ser beneficiosa durante la cirugía de resección pancreática en casos en los que la anatomía quirúrgica sea difícil de identificar.

1. Introducción

El adenocarcinoma pancreático es la cuarta causa principal de muertes relacionadas con cáncer. El cáncer de páncreas presenta una tasa de supervivencia en 5 años de 6% [1]. En este sentido, la cirugía es el único tratamiento curativo viable para este tipo de cáncer. Sin embargo, la tasa de márgenes negativos de resección en las cirugías pancreáticas son todavía bajos (34-42%) [2].

La resección pancreática laparoscópica es un procedimiento técnicamente complejo debido, además de la limitada información visual y táctil proporcionada durante la cirugía laparoscópica, a que el páncreas es una estructura delicada situada cerca de importantes estructuras vasculares y su ubicación retroperitoneal dificulta el acceso y la identificación del tumor durante la intervención. Estos factores limitantes pueden verse agravados durante el desarrollo de este tipo de procedimientos quirúrgicos por abordaje por puerto único, debido principalmente a la

reducción de la movilidad de los instrumentos quirúrgicos que este abordaje conlleva. Por lo tanto, el entrenamiento quirúrgico con modelos pancreáticos fiables es crucial para abordar los retos de la cirugía pancreática laparoscópica.

El uso de técnicas de imagen preoperatoria durante la resección de tumores pancreáticos resulta fundamental durante la fase de planificación quirúrgica. Sin embargo, trasladar este tipo de fuentes de información al campo operatorio presenta una serie de limitaciones debido principalmente a los cambios en las estructuras anatómicas durante el desarrollo de la cirugía. Por lo tanto, es importante explorar y analizar nuevas técnicas de imagen intraoperatoria para su uso durante la cirugía pancreática, como es el caso de la imagen por infrarrojos cercano (near infrared, NIR) [2][3]. Para este tipo de técnicas de imagen, es necesario definir la dosis adecuada de verde de indocianina (Indocyanine green, ICG) para cada procedimiento y modelo quirúrgico con el fin de obtener un resultado claro y de utilidad para el cirujano.

El objetivo de este estudio es triple: (1) Desarrollar un modelo porcino de tumor pancreático para su uso en formación e investigación en la resección de tumores pancreáticos; (2) analizar la viabilidad en el uso de este modelo de tumor durante cirugía de páncreas por abordaje laparoscópico y por puerto único; y (3) analizar la utilidad de la imagen por infrarrojos cercanos durante la cirugía de resección pancreática y definir una dosis adecuada para el uso del verde de indocianina en cirugía pancreática en modelo porcino.

2. Material y métodos

2.1. Modelo de tumor pancreático

Se desarrollaron dos modelos diferentes de tumor en tres cerdos machos (peso promedio 35 kg). El primer modelo de tumor fue creado en la cabeza del páncreas en dos animales. El segundo modelo de tumor fue creado en la cola del páncreas en un animal.

Los tumores se crearon con una mezcla de alginato, solución salina y contraste para tomografía computerizada (TAC). La mezcla se inyectó en la capa superficial de la cabeza y cola del páncreas, dependiendo del modelo, haciendo uso de una aguja percutánea de 14G y 51 mm de longitud y con el apoyo de una pinza laparoscópica.

Este estudio fue revisado y aprobado por el comité local de ética y bienestar animal. El alojamiento de los animales y su manejo se realizó de acuerdo con la directiva europea (2010/63/UE) sobre el uso de animales con fines científicos, las leyes españolas (RD 53/2013) para el uso y cuidado de los animales, las pautas ARRIVE, y de acuerdo con la guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio [4].

2.2. Procedimientos quirúrgicos

Para llevar a cabo la resección de los modelos de tumor, los tumores presentes en la cabeza del páncreas fueron resecados mediante una pancreaticoduodenectomía laparoscópica. Para el tumor presente en la cola del páncreas, éste fue extraído mediante una pancreatectomía distal con un abordaje por puerto único.

2.3. Sistema de imagen por infrarrojos cercanos

Durante el transcurso de las cirugías, se utilizó un sistema de imagen por infrarrojos cercanos Image1 SPIES™ (Karl Storz). Para ello, quince minutos antes de cada intervención, se inyectó por vía intravenosa una solución de verde de indocianina (ICG).

La solución de ICG fue administrada con una concentración de 5 mg/ml. Las dosis empleadas fueron de 0.25 mg/kg (dosis A) durante una pancreaticoduodenectomía y la pancreatectomía distal y de 0.5 mg/kg (dosis B) durante la segunda pancreaticoduodenectomía.

2.4. Calidad de la hepaticoyeyunostomía

A modo de evaluar la calidad de la hepaticoyeyunostomía realizada durante la pancreaticoduodenectomía, se evaluó la permeabilidad de la anastomosis mediante la excreción de ICG y fluoroscopia. Para este último, se inyectó medio de contraste a través del conducto biliar común.

3. Resultados y discusión

3.1. Modelos de tumor pancreático

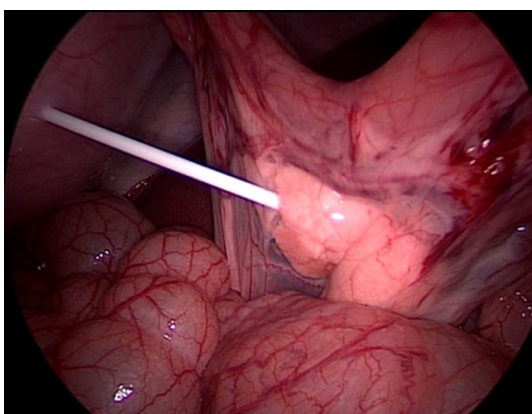


Figura 1. Inyección percutánea para la creación del modelo de tumor en la cabeza del páncreas.

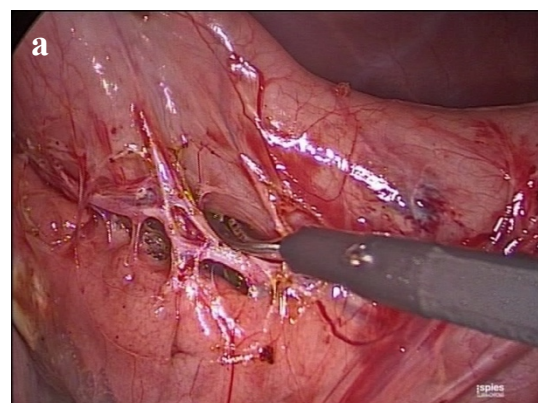
Los tres modelos de tumor pancreáticos, en la cabeza y la cola del páncreas, fueron desarrollados con éxito en todos los animales y sin complicaciones. La Figura 1 muestra la inyección percutánea de la mezcla para la creación del modelo de tumor en la cabeza del páncreas porcino, justo

por debajo del duodeno. La Figura 2 muestra una reconstrucción 3D del estudio de TAC preoperatorio del paciente tras la creación del modelo de tumor. El tumor en la cabeza del páncreas puede ser identificado con claridad en la imagen.



Figura 2. Reconstrucción 3D de un estudio de TAC preoperatorio. El modelo de tumor en la cabeza del páncreas es marcado por la flecha de color blanco.

Teniendo en cuenta los estudios de TAC preoperatorios, se evaluó la localización y extensión de cada tumor y se planificó el procedimiento quirúrgico a llevar a cabo. Las dos pancreaticoduodenectomías con abordaje laparoscópico multipuerto y la pancreatectomía distal mediante abordaje por puerto único se realizaron sin complicaciones. Durante la pancreaticoduodenectomía, para la resección de la cabeza del páncreas, la arteria pancreaticoduodenal y el duodeno fueron disecados en primer lugar. Finalmente, el duodeno y la cabeza del páncreas fueron resecados usando una grapadora y Ligasure® (Covidien) (Figura 3). Para llevar a cabo la hepaticoyeyunostomía, se realizó una incisión en la última parte del intestino (yeyuno), previamente resecada del páncreas, para posteriormente realizar una anastomosis entre el yeyuno y los conductos biliares (Figura 4).



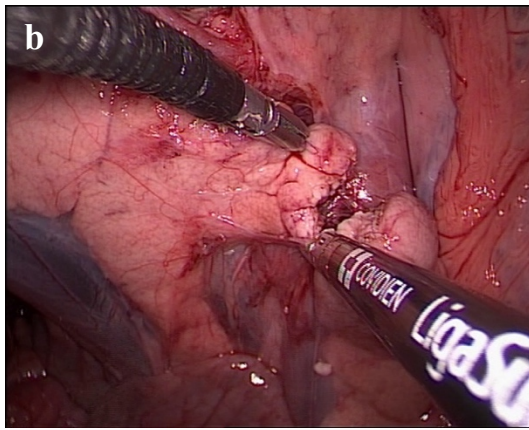


Figura 3. Resección pancreática: Disección de la arteria gastroduodenal durante la pancreaticoduodenectomía (a) y resección de la cola del páncreas durante la pancreatectomía distal (b).

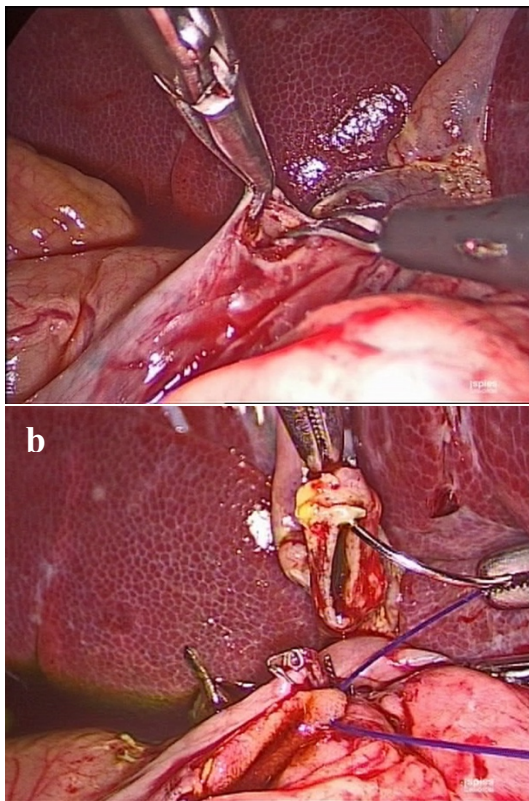


Figura 4. Hepaticoyeyunostomía: Incisión en el yeyuno (a) y anastomosis (b).

Por consiguiente, se han presentados los pasos necesarios para el desarrollo de un modelo porcino de tumor en la cabeza y cola del páncreas. El modelo es viable para la formación en técnicas de diagnóstico por imagen y planificación quirúrgica para el tratamiento de tumores pancreáticos. Por otro lado, el modelo puede ser una herramienta fundamental para la formación en técnicas quirúrgicas de mínima invasión aplicadas al cáncer de páncreas.

2.2. Sistema de imagen por infrarrojos cercanos

Las Figuras 5 y 6 muestran los resultados obtenidos de las dos dosis de ICG utilizadas durante el estudio. Para ambas dosis, el uso del sistema de imagen por infrarrojos cercanos

facilitó la identificación del conducto cístico y la arteria pancreaticoduodenal en todos los procedimientos quirúrgicos. Sin embargo, el aumento de la dosis de ICG (dosis B), mostró resultados anatómicos más claros (Figura 6). Esta dosis permitió la visualización de la arteria cística (Figura 6), la cual no fue visible con la dosis más baja de ICG (dosis A).

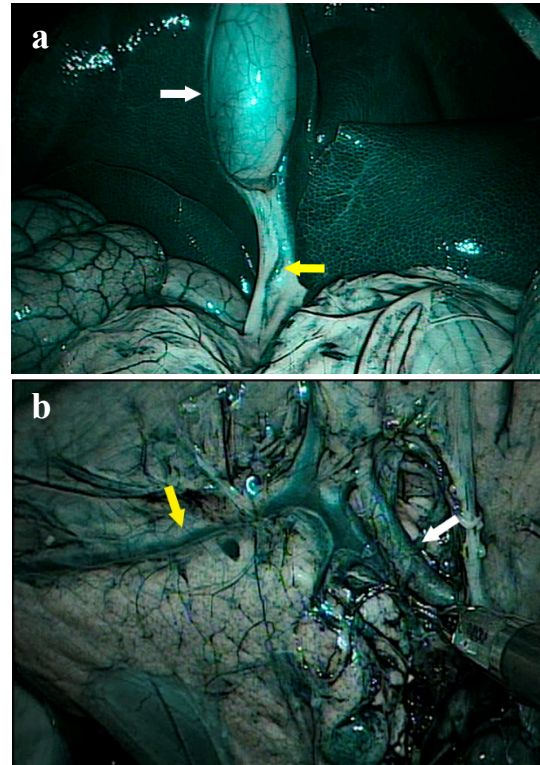
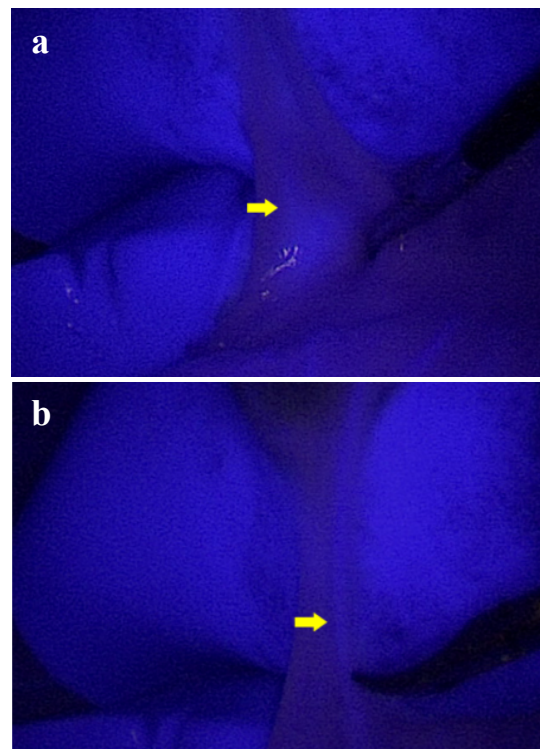


Figura 5. Dosis A. Anatomía biliar (a): Vesícula biliar (flecha blanca) y conducto cístico (flecha amarilla). Anatomía pancreática (b): Arteria pancreaticoduodenal (flecha anmarilla) y arteria esplénica (flecha blanca).



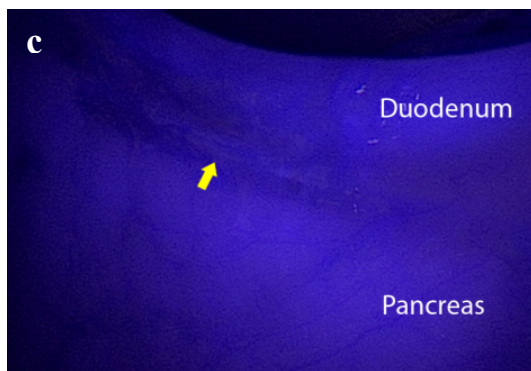


Figura 6. Dosis B. Anatomía biliar: Artería cística (a) y conducto cístico (b). Anatomía pancreática: Artería pancreaticoduodenal (c).

La visualización de estas estructuras anatómicas, tanto de la zona biliar como pancreática, proporcionó información en tiempo real de utilidad para el desarrollo de las cirugías de resección pancreática. Por lo tanto, los resultados muestran que una dosis de ICG de 0.5 mg/kg a una concentración de 5 mg/ml es la adecuada para poder identificar de forma clara la anatomía biliar y pancreática en el modelo porcino para la formación e investigación en técnicas quirúrgicas para el tratamiento de tumores pancreáticos.

Durante la prueba de permeabilidad de la hepaticoyeyunostomía, los resultados mostraron que la excreción biliar de ICG no se visualizó de forma clara en ninguno de los dos procedimientos. En el caso de la imagen por fluoroscopia, la permeabilidad se verificó en uno de los casos (Figura 7). Subar et al. [5] presentaron resultados satisfactorios respecto a la evaluación de la hepaticoyeyunostomía en abordaje convencional mediante la excreción biliar de ICG. Sin embargo, los resultados del presente estudio muestran que el uso de la fluoroscopia es más efectivo para evaluar la permeabilidad de este tipo de anastomosis, aunque sería necesario llevar a cabo un mayor número de casos para poder demostrar con mayor certeza esta afirmación.

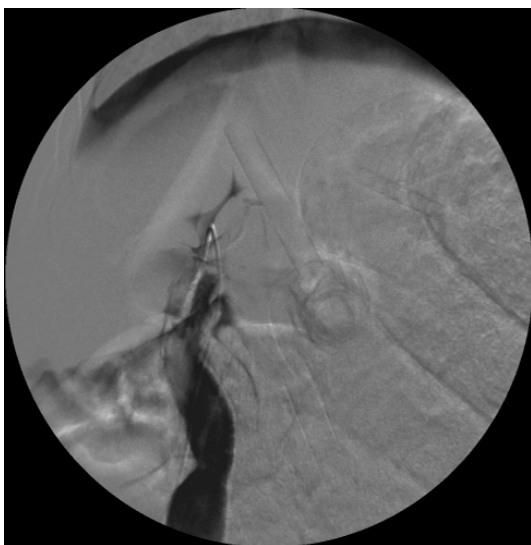


Figura 7. Prueba de permeabilidad de la hepaticoyeyunostomía. Imagen de fluoroscopia.

4. Conclusiones

Se ha presentado el desarrollo de un modelo de tumor pancreático claramente identificable mediante TAC. Este modelo puede ser una herramienta de utilidad tanto para la formación en procedimientos de resección pancreática como para estudios de investigación en diagnóstico y cirugía en tumores pancreáticos. Se ha demostrado la viabilidad en el uso de este modelo de tumor pancreático durante la pancreaticoduodenectomía laparoscópica y la pancreatectomía parcial por puerto único. Se ha establecido la dosis de ICG para la adecuada visualización tanto de la anatomía biliar como pancreática en modelo porcino. Los resultados muestran como la imagen por infrarrojos cercanos proporciona una técnica de imagen intracorpórea en tiempo real útil para el guiado anatómico durante la cirugía de resección pancreática, y la cual puede ser beneficiosa en aquellos casos en los que la anatomía quirúrgica sea difícil de identificar.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado en parte por la Consejería de Empleo, Empresa e Innovación del Gobierno de Extremadura, y el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (GR15175) y el Fondo Social Europeo (PO14034).

Referencias

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A (2015) Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin* 65(1):5-29.
- [2] Sánchez-Margallo JA, Langø T, Hofstad EF, Mårvik R, Sánchez-Margallo FM (2017) Laparoscopic Pancreas Surgery: Image Guidance Solutions. In: *Laparoscopic Surgery*. InTech, pp 65–89
- [3] Handgraaf HJM, Boonstra MC, Erkel AR Van, Bonsing BA, Putter H, Velde CJH Van De, Vahrmeijer AL, Mieog JSD (2014) Current and Future Intraoperative Imaging Strategies to Increase Radical Resection Rates in Pancreatic Cancer Surgery. *Biomed Res Int* 2014:1-8.
- [4] National Research Council (2011) *Guide for Care and Use of Laboratory Animals*. Washington: The National Academies Press.
- [5] Subar D, Pietrasz D, Fuks D, Gayet B (2015) A novel technique for reducing pancreatic fistulas after pancreaticojejunostomy. *J Surg case reports* 7: 1–3.

Prone to supine surface-based registration for surgical planning in breast cancer treatment

F. Alfano¹, F. Pérez García^{1,2}, JE. Ortuño Fisac^{2,1}, M. Herrero Conde³, O. Bueno Zamora⁴, Felipe A. Calvo⁴, S. Lizarraga⁴, A. Santos^{1,2}, J. Pascau^{4,5}, MJ. Ledesma Carbayo^{1,2}

¹ Biomedical Image Technologies, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid España ² CIBER-BBN, Madrid, España

³ Unidad de mama, Hospital de Madrid Sanchinarro, Madrid, España

⁴ Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón. Madrid, España

⁵ Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial. Universidad Carlos III de Madrid. Madrid, España

Abstract

Breast cancer is the most common invasive cancer in women worldwide. Many women with breast cancer have their malignant tumors detected before the lesions become clinically palpable. Occult lesions must be marked for the surgeon to ensure that they can be effectively resected. Image-guided wire localization (WGL) is the current standard of care for the excision of non-palpable carcinomas during breast conserving surgery. The integration of the information from multimodal imaging may be especially relevant in surgical planning as complement or an alternative to WGL. The combination of information from images in different positions is especially difficult due to large breast deformation. This work presents a system based on surface registration to localize the lesion in the operative position, starting from a prone MRI study and a surface of the patient in the supine position.

The pre-operative surface from the MRI is registered to the surface obtained in a supine position similar to the intra-operative setting. Triangular meshes have been used to model breast surface in both positions and surfaces are aligned using a Laplacian deformation with fiducials automatically obtained from 3 anatomical references. The evaluation of the methodology has been carried out in 13 cases in which a supine-CT was available achieving an average localization error of 6.7 mm.

1. Introduction

Many women with breast cancer have their malignant tumors detected by screening mammography or breast Magnetic Resonance Imaging (MRI), before the lesions become clinically palpable [1]. In these cases, the preferred treatment option is breast conserving surgery (BCS) the goal of which is complete resection of the malignancy with a surrounding margin of tissue free of cancer while simultaneously preserving the shape and cosmetic appearance of the breast [2]. Image-guided wire localization (WGL) is the current standard of care for the excision of non-palpable carcinomas during BCS. The technique, developed in the 1970s, is performed by the radiologist on the same day as the patient's planned surgery. A hooked wire is placed within the lesion under radiological guidance (typically ultrasound US) locating the area of concern. Hence, the surgeon uses the wire as a guide to locate the lesion and to remove it with a safety margin. Whilst WGL is the current gold-standard for non-palpable lesions, it has numerous drawbacks. It is technically challenging and may pose significant

difficulty, particularly in dense breast tissue. The procedure can be demanding on the patient as the wire must be kept in place until the time of operation; sometimes with significant pain and discomfort. The wire may become displaced, migrate or be transected especially during mobilization of the patient and may have to be replaced [3-5]. The rate of re-operation for incomplete tumor clearance has been reported to be as high as 40-50% in association with wire-guided surgery [6]. Furthermore, the way the wire is inserted, limits the placement of the incision and may have an impact on the cosmetic outcome. Radio-guided occult lesion localization is an alternative technique in which a small volume of a radiopharmaceutical is injected into the lesion under imaging guidance. The lesion is then located and excised intra-operatively with a gamma detecting probe. However, this solution is prone to complications related with the leakage of the radiotracer into neighboring breast quadrants [7]. Due to the disadvantages of both preoperative localization methods, a noninvasive technique based on multimodal imaging will be useful to estimate the lesion location.

Numerous imaging modalities are available to the breast radiologist: mammography, US and MRI. Notably, breast shape can vary significantly between the imaging and surgical positions used in conventional practice. With mammography, the breast is pulled upwards and outwards and compressed, with MRI the breasts are pendant in the prone position, and with US the breasts are supine with the ipsilateral arm raised. None of these imaging exams orient the breast in the surgical position (breast supine and ipsilateral arm extended), and as a result, the surgeon must mentally account for associated shifts in tumor shape and position in order to resect the disease with pathologically negative margins.

Pallone et al. [8] proposed a method to improve tumor localization using preoperative supine MRI and intraoperative optical scanning. Han et al. [9] developed a system using prone and supine MRI images based on finite element method to model breast deformation. However, the standard diagnostic imaging for patients undergoing BCS involves only a prone MRI, hence both proposals require significant changes in the pre-operative protocol as well as great computational resources.

This work presents a simple and fast solution supporting BCS that would alter minimally the preoperative surgical

protocol acquiring the surface of the patient in supine position and locating the tumor identified in the MRI in prone position performing a surface based registration. The prone-to-supine tumor displacement in the breast has been retrospectively evaluated using preoperative prone MRI and supine Computed Tomography (CT). The breast in prone position is deformed until it is aligned with the intraoperative supine surface. Hence, the tumor position is calculated using a method based on the retro projection of the surface deformation inside the breast volume. This approach has been tested in 13 real clinical cases.

2. Materials and Methods

The aim of this work is the implementation of a method based on the registration of surfaces, extracted from a preoperative MRI and a surface obtained with a 3D laser scanning system, in order to localize the tumor in the surgical position. To perform a proof of concept and an evaluation, preoperative MRI and CT images have been gathered to extract the surface of the breast in the prone and supine positions respectively, and the tumor in the two images has been localized. The prone and supine surfaces have been aligned and the tumor localization in the intraoperative position has been estimated. The distance between the tumor centroid in supine position, identified in the CT image, and the tumor centroid estimated with the implemented technique has been calculated to validate the results.

2.1. Data

Data consists of 13 cases provided by *Hospital General Universitario Gregorio Marañón* (HGUGM) in Madrid. The system has been developed using a prone MRI and the available information in supine position. Since the surgical hospital protocol does not involve a supine MRI, staging CT scans have been used in place of the intraoperative surface. Each case includes:

- Preoperative MRI T2 SPAIR (SPectral Attenuated Inversion Recovery).
- MRI subtraction post/pre contrast.
- Preoperative CT.

These data come from a retrospective study, and it is important to note that the acquisition of a CT scan does not belong to the standard preoperative protocol, but is required only when it is necessary for cancer staging purposes. This fact limits the number of available cases. Furthermore, although the position during the acquisition is supine, it does not exactly reproduce surgical position.

2.2. Pre-processing

The MRI T2 SPAIR and CT images have been filtered and segmented to extract the breast tissue volume as a binary image using the Segmentation Tool from 3D Slicer, a software platform for image processing and three-dimensional visualization [9]. Hence, using the same tool, the tumor has been segmented in the MR Subtraction image and in the CT image to validate the results.

2.3. Biomechanical assumption

In order to simplify the prediction of breast behavior, the following assumptions have been made:

1. The parenchyma of the breast is incompressible [10].
2. The anatomical axes starting from the nipples do not vary between prone and supine position.
3. The skin of the breast is compressed more in the lateral and caudal direction moving from prone to supine position [11].

2.4. Mesh generation

The prone and the supine surfaces have been extracted from the binary images as triangular meshes. First of all, the two masks have been aligned in the transversal plane and cut posteriorly considering a proper defined region of interest including all the breast volume. Then an approximate segmentation of the pectoralis muscle boundary has been performed automatically in the MR image as shown in Figure 1. Finally, the CT surface has been extracted while the MR surface has been modeled as a closed mesh. The aim is to include the behavior of the surface of pectoral muscle as zero-displacement boundary condition during the deformation of the breast from prone to supine [11].

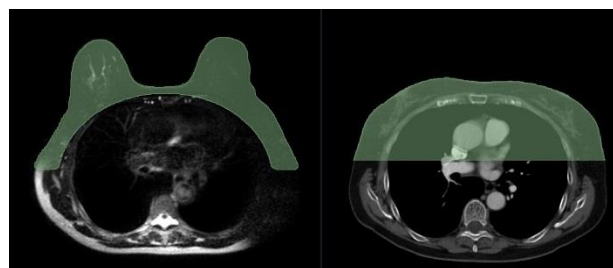


Figure 1. MRI and CT masks are aligned in the transversal plane. An approximate automatic segmentation of pectoralis muscle boundary is performed in the MRI image. Finally the prone and supine surfaces are extracted and modeled as triangular meshes.

2.5. Surface deformation

A Laplacian deformation [12] has been used to obtain the transformation of the surface. This technique, using differential coordinates, allows the preservation of the geometric details of the surface. In contrast to the traditional global Cartesian coordinates, which can only tell the spatial location of each point, a differential surface representation carries information about the local shape and the details of the surface.

Considering a surface mesh with n vertices, let \mathbf{L} be the Laplacian matrix of the mesh and \mathbf{V} an $n \times 3$ matrix containing the Cartesian coordinates of the vertices. It is possible to define its Laplacian representation in matrix form as $\mathbf{\Delta}$ an $n \times 3$ matrix:

$$\mathbf{LV} = \mathbf{\Delta}$$

The prone to supine transformation is achieved defining:

- A subset of k vertices referred to as the control vertices.

- The final position for each control vertex (deformation constraints).
- A weighting scheme for the Laplacian matrix.

Control vertices are automatically calculated starting from 3 anatomical points, the nipples, marked in both pre and intraoperative surfaces and the Supra Sternal Notch (SSN) Point marked in the intraoperative surface as shown in Figure 2.

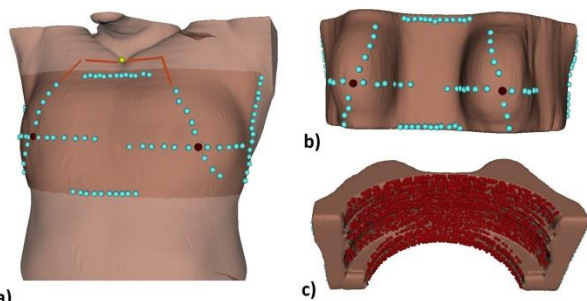


Figure 2. a) Supine surface. b) Prone surface (front-face). c) Prone surface (back-face). The control vertices (blue points) are automatically calculated from 3 points, the nipples and the SSN point (yellow point). The red points represent the surface of the pectoral muscle to which is assigned a zero-displacement condition during the deformation of the breast from prone to supine position.

The deformation process must follow the deformation constraints while preserving the Laplacian representation as much as possible. The final surface is achieved by solving the following system of equations:

$$\begin{bmatrix} \mathbf{L}_f \\ \mathbf{0} \ \mathbf{I}_c \end{bmatrix} \mathbf{V}_d = \begin{bmatrix} \Delta_f \\ \mathbf{V}_c \end{bmatrix}$$

\mathbf{V}_d is the matrix containing the coordinates after deformation. The last k rows of the system correspond to the control vertices. \mathbf{L}_f denotes the Laplacian matrix of the unconstrained vertices, whose elements are calculated using a cotangent weights scheme. Given an edge of the surface mesh, its corresponding cotangent weight is the mean of the cotangents of the angles opposite to the edge. \mathbf{I}_c is the $k \times k$ identity matrix, Δ_f denotes the Laplacian representation of the unconstrained vertices, removing the rows corresponding to the control vertices. \mathbf{V}_c is the matrix containing the final position of control vertices. Figure 3 shows the surface obtained after the Laplacian deformation.

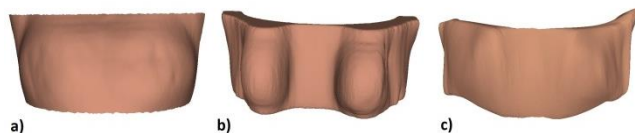


Figure 3. a) Supine surface. b) Prone surface. c) Deformed prone surface into supine position.

2.6. Tumor Localization

The main idea behind the estimation of the tumor position from the prone position into the supine surgical position is to back-project the surface deformation inside the breast volume as shown Figure 4. The tumor mesh is fastened to the breast surface vertices defining connection lines in the

radial direction of tumor edges. Starting from the updated positions of these vertices in the deformed configuration, a cloud of points is found by intersecting the updated lines with transversal planes to each breast surface. Then the cloud is confined inside the deformed surface and the tumor position is estimated by identifying the center of mass of the clustered points discarding outliers.

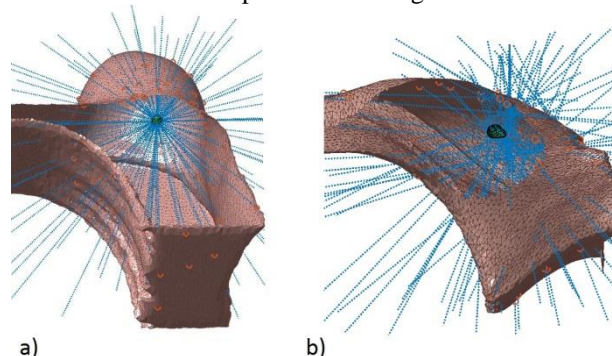


Figure 4. a) Interior of prone surface: connection lines rise from the tumor edges to the breast surface finding the intersection vertices (orange circle) in the radial direction. b) Interior of the resultant deformed surface and actual tumor in supine position: the deformed position of the intersection vertices generates the updated lines.

2.7. Interface

A graphical interface has been implemented as CLI module in 3D Slicer. The tool gets as inputs the binary masks or surfaces of the images in the prone and in the surgical positions, 3 fiducials points marked by the user and the tumor location in prone position. Slicer allows running MATLAB functions directly for the Laplacian deformation. Ultimately, the tool is capable of displaying the lesion in the intra-operative position as well as its projection on the skin.

3. Results

Figure 5 shows the distance between the centroid of the predicted localization of the tumor and the centroid of the tumor segmented in the CT image.

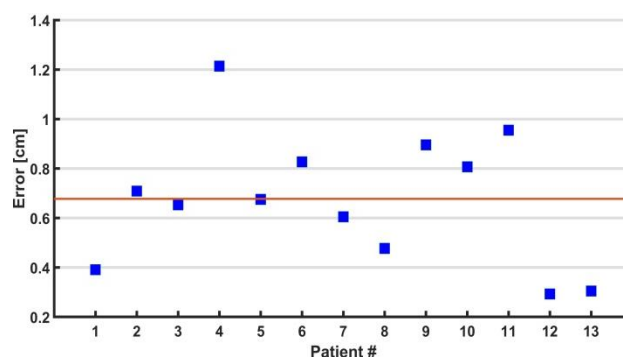


Figure 5. The error made in the localization of the tumor. It is calculated as distance (cm) between the centroid of the estimated localization of the lesion and the centroid of the lesion segmented in the CT image.

The average distance was 0.67 cm. Only one case showed an error greater than 1 cm, corresponding to a very small tumor (less than 0.3 cm^3) and very deep in the breast (distance from skin of 3.32 cm). Furthermore, the tool is

capable of displaying the lesion in the intra-operative position as well as its projection on the skin as shown in Figure 6.

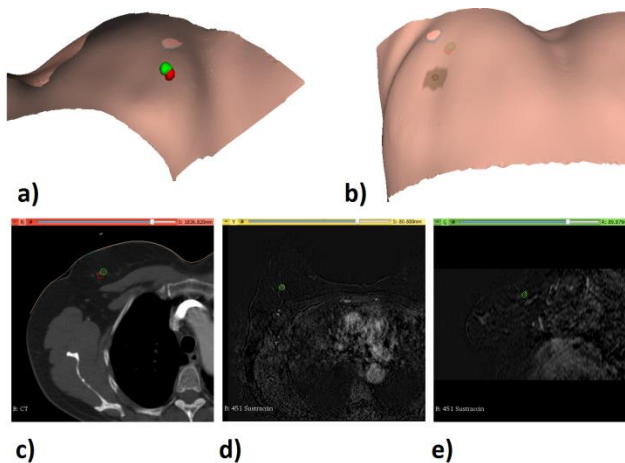


Figure 6. Results of case 13. a) Intraoperative surface (back face) with the actual and estimated tumors; b) intraoperative surface with tumor projection on the skin (front face); c) right breast in the CT; d) right breast in MRI (axial); e) right breast in MRI (sagittal). The actual tumor is shown in green and the estimated one in red.

4. Conclusion and Future Work

This work proposes and validates a method to estimate the tumor location in supine position during breast cancer surgery, starting from a preoperative MR image acquired in prone position and a surface acquisition in surgical position. Distances between the predicted location of the tumor and the one segmented in the supine configuration exceeded 1 cm in only 1 out of 13 cases. The validation of the method showed promising results, especially considering that similar results have been achieved with other proposals of the literature that require significant changes in acquisition protocol and great computational resources [8] [9] [14]. Further research would be necessary to ensure the validity of the method in the presence of breast deformation due to compression against the MRI breast coil or previous surgeries.

However, even though the results are encouraging, the tumor localization technique only takes in account the surface deformation, without modelling the breast volume behaviour. Further studies on the biomechanical model of the breast and its component tissues would be necessary to develop a more accurate and robust method. Prior work on volume registration based on biomechanical modeling have demonstrated accurate results even in the presence of large deformations such as the one occurring in mammography acquisition [9] [15].

The validation of the current proposal has been developed using the available information closest to the surgical position (a CT in supine position). Using an optical scanner would allow the easy acquisition of the breast surface in the operative room before the tumor resection. This acquisition would replace the surface obtained from the CT scan used in this work.

5. Acknowledgement

This study was supported by projects TEC2013-48251-C2, DTS14/00192, PI-15/02121 (Ministerio de Economía y Competitividad, ISCIII), TOPUS-CM S2013/MIT-3024 (Comunidad de Madrid) and FEDER funds.

6. Bibliography

- [1] V. Altomare, G. Guerriero, L. Giacomelli, C. Battista, R. Carino, M. Montesano, et al., "Management of nonpalpable breast lesions in a modern functional breast unit," *Breast cancer research and treatment*, vol. 93, pp. 85-89, 2005.
- [2] G. Q. della Rovere, J. Benson, M. Morgan, R. Warren, and A. Patel, "Localization of impalpable breast lesions—a surgical approach," *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)*, vol. 22, pp. 478-482, 1996.
- [3] P. S. Davis, R. J. Wechsler, S. A. Feig, and D. E. March, "Migration of breast biopsy localization wire," *American Journal of Roentgenology*, vol. 150, pp. 787-788, 1988.
- [4] M. J. Homer, "Transection of the localization hooked wire during breast biopsy," *American Journal of Roentgenology*, vol. 141, pp. 929-930, 1983.
- [5] J. Landercasper, S. Gundersen Jr, A. Gundersen, T. Cogbill, R. Travelli, and P. Strutt, "Needle localization and biopsy of nonpalpable lesions of the breast," *Surgery, gynecology & obstetrics*, vol. 164, pp. 399-403, 1987.
- [6] D. Chadwick and A. Shorthouse, "Wire-directed localization biopsy of the breast: an audit of results and analysis of factors influencing therapeutic value in the treatment of breast cancer," *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)*, vol. 23, pp. 128-133, 1997.
- [7] M. S. Sajid, U. Parampalli, Z. Haider, and R. Bonomi, "Comparison of radioguided occult lesion localization (ROLL) and wire localization for non-palpable breast cancers: A meta-analysis," *Journal of surgical oncology*, vol. 105, pp. 852-858, 2012.
- [8] M. J. Pallone, S. P. Poplack, R. J. Barth Jr, and K. D. Paulsen, "Combining supine MRI and 3D optical scanning for improved surgical planning of breast conserving surgeries," in *SPIE Medical Imaging*, pp. 83163B-83163B-8, 2012.
- [9] L. Han, J. Hipwell, B. Eiben, D. Barratt, M. Modat, S. Ourselin and D.J. Hawkes, "A nonlinear biomechanical model based registration method for aligning prone and supine MR breast images," in *IEEE transactions on medical imaging*, 33(3), 682-694, 2014.
- [10] A. Fedorov, R. Beichel, J. Kalpathy-Cramer, J. Finet, J.-C. Fillion-Robin, S. Pujol, et al., "3D Slicer as an image computing platform for the Quantitative Imaging Network," *Magnetic resonance imaging*, vol. 30, pp. 1323-1341, 2012.
- [11] Y. Fung and S. Cowin, "Biomechanics: mechanical properties of living tissues," *Journal of Applied Mechanics*, vol. 61, p. 1007, 1994.
- [12] T. J. Carter, C. Tanner, W. R. Crum, N. Beechey-Newman, and D. J. Hawkes, "A framework for image-guided breast surgery," in *International Workshop on Medical Imaging and Virtual Reality*, pp. 203-210, 2006.
- [13] M. Botsch and O. Sorkine, "On linear variational surface deformation methods," *IEEE transactions on visualization and computer graphics*, vol. 14, pp. 213-230, 2008.
- [14] C. Behrenbruch, K. Marias, P. Armitage, N. Moore, J. Clarke, and J. Brady, "Prone-supine breast MRI registration for surgical visualisation," in *Medical Image Understanding and Analysis*, 2001.
- [15] J. A. Solves Llorens, M. J. Rupérez, C. Monserrat, E. Feliu, M. García, and M. Lloret, "A complete software application for automatic registration of x-ray mammography and magnetic resonance images," in *Medical physics*, 41(8), 2014.

Sesión Pósters 2

Jueves, 30 de Noviembre

Estudio de la usabilidad de dos tecnologías aplicadas a pacientes de ELA: Interfaz Cerebro-Computadora y Eyetracker

R. Ron Angevin¹, L. García², V. Lespinet Najib², JM. André²

¹ Departamento Tecnología Electrónica, Universidad de Málaga, Málaga, España, rrou@uma.es

² IMS-CNRS UMR 5218, CIH, ENSC-Bordeaux, Université de Bordeaux, Burdeos, Francia, {lgarcia, veronique.lespinet,jean-marc.andre}@ensc.fr

Resumen

Pacientes que sufren de Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) pueden llegar a sufrir lo que se conoce como síndrome de enclaustramiento (Locked-in-syndrome, LIS), caracterizado, en su modalidad clásica, por la imposibilidad de realizar cualquier movimiento salvo parpadear y mover los ojos. Para estos pacientes, la tecnología asistida disponible es muy limitada, siendo aquellas basadas en el eyetracker (seguimiento de ojos) y en el BCI (Brain-Computer Interface) las más apropiadas. Varios estudios han tratado de comparar ambas tecnologías. En el caso de controlar un sistema de comunicación, estos concluyen que un eyetracker es más ventajoso. Precisamente, el objetivo del estudio que se propone en esta contribución es demostrar que el uso de la tecnología puede depender de las preferencias de cada usuario. Para ello se lleva a cabo un estudio comparativo entre el uso de un eyetracker (Tobii modelo C15) y una Interfaz Cerebro-Computadora basado en la detección del potencial P300 para controlar un teclado virtual. Dicho estudio se realiza sobre un paciente con ELA. El estudio de las prestaciones de ambos sistemas en términos de error y tiempo, además de la carga de trabajo y de otras medidas subjetivas, nos permitirán determinar la usabilidad de ambos sistemas y obtener resultados sobre dicha comparativa.

1. Introducción

Existen numerosos trastornos neurológicos que tienen como consecuencia importantes deficiencias en las funciones motoras de aquellas personas que sufren estas enfermedades. Personas afectadas de Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA), distrofia muscular, parálisis cerebral, lesiones agudas en la médula espinal y otras numerosas enfermedades neurológicas pueden presentar grandes discapacidades. En algunos casos, las deficiencias motoras pueden llegar a ser realmente severas, hasta el extremo de producir la pérdida total del control de los músculos responsables de los movimientos voluntarios del cuerpo, incluido los movimientos de los ojos y de la propia respiración. En algunos casos, estos pacientes pueden llegar a lo que se conoce como el estado de *locked-in síndrome* (LIS) es decir, encerrado en ellos mismos.

Si existe cierta tecnología que permite controlar un sistema de comunicación para pacientes que aún tienen cierto control muscular, para pacientes en estado de LIS, dicha tecnología es muy limitada. Probablemente, las tecnologías basadas en eyetracking, electrooculografía (EOG) o interfaces cerebro-computadora (sistemas BCI) sean las únicas alternativas viables para estos pacientes

[1]. Puesto que tanto el eyetracking como la electrooculografía se basan en el movimiento del ojo, hay que resaltar que ambas técnicas requieren cierto control ocular por parte del paciente.

Conviene indicar que, de estas tecnologías, la basada en eyetracking es, en la actualidad, una de las más avanzadas y usadas de cara a proveer un sistema de comunicación para pacientes en estado de LIS y, muy especialmente, para pacientes de ELA. Un estudio reciente trata de explorar la efectividad en la comunicación así como las variables que pudiesen afectar a la utilización de un sistema de eyetracker para pacientes de ELA [2]. La conclusión más relevantes de dicho estudio es que la principal limitación del eyetracker está en que sólo es viable para personas que tienen un buen control oculomotor. Para pacientes con disfunción oculomotora, el uso de un eyetracker puede resultar muy molesto o, incluso imposible.

Otro estudio trata de comparar tres tecnologías distintas para proporcionar una comunicación binaria: eyetracking, electrooculografía (EOG) y un BCI auditivo. Las pruebas se hicieron sobre un paciente de ELA con control oculomotor residual, teniendo bastante dificultad en usar las 3 tecnologías, siendo la EOG la más favorable.

Además del BCI auditivo, otros sistemas BCI orientados a los sistemas de comunicación son aquellos que hacen uso del potencial visual P300, y que se basan en el *P300 speller* propuesto por Farwell y Donchin [3] y que ha sido estudiado y referenciado en numerosas ocasiones [4]. Recientemente, un estudio trata de comparar dicho *P300 speller* y un eyetracker, para controlar una aplicación de acceso a Internet [5]. Según los resultados obtenidos sobre un total de 12 pacientes, se concluye que el eyetracker presenta más ventajas como tecnología para controlar un sistema de comunicación. Los participantes concluyeron además que el uso del eyetracker les resultó menos cansino, siendo el BCI una tecnología que requería más esfuerzo y más tiempo para llevar a cabo la misma tarea.

El objetivo del trabajo que aquí se presenta es el de mostrar que la elección de una tecnología puede depender de las preferencias del sujeto y, por ello, no debe atribuirse por defecto una tecnología concreta a un paciente sin que, previamente, haya sido evaluada por éste. En este sentido, la usabilidad de estas dos

tecnologías [6], el eyetracker y un *P300 speller* visual, será evaluada.

2. Metodología

2.1. Participantes

Un sujeto, de nacionalidad francesa, de 57 años de edad, y diagnosticado con Esclerosis Lateral Amiotrófica en 2010, participó en el estudio. El paciente no tenía experiencia previa en el manejo de ninguno de los dos dispositivos: el eyetracker y el BCI. Podía mover sus ojos y presentaba gran dificultad para comunicarse a través de la voz. El experimento fue aprobado por el Comité Ético de Experimentación de la Universidad de Málaga y cumplió los criterios de la Declaración de Helsinki. El participante dio su consentimiento por escrito a través de un protocolo revisado por el equipo Cognitivo de la ENSC-IMS de la Universidad de Burdeos (Francia). El experimento fue llevado a cabo en el hospital CHU (Centre Hospitalier Universitaire) de Burdeos.

2.2. Procedimiento

El estudio se realizó en un solo día, en el que el participante testeó la aplicación controlada por el BCI (sesión 1) y por el eyetracker (sesión 2). Durante el experimento el paciente se encontraba sentado en su silla de ruedas a una distancia aproximada de 60 cm en frente de la pantalla. Antes del comienzo de la sesión, al paciente se le dio instrucciones relacionadas con el procedimiento y la tecnología a usar (BCI o eyetracker) de manera verbal.

Puesto que el objetivo del estudio era comparar la usabilidad del eyetracker y del BCI al llevar a cabo una tarea de comunicación, el tamaño de la matriz de letras (*speller*) fue el mismo en ambos casos. Concretamente, se usó el *speller* basado en el clásico propuesto por Farwell y Donchin [3], que consistía en una matriz de 6 x 6 elementos (36 símbolos alfanuméricos entre letras y números) ordenados en forma de filas y columnas (ver figura 1). El tamaño de la matriz fue de 14.69 cm siendo el tamaño de los símbolos de 1.17 cm y la distancia entre estos de 1.53 cm.

A	B	C	D	E	F
G	H	I	J	K	L
M	N	O	P	Q	R
S	T	U	V	W	X
Y	Z	1	2	3	4
5	6	7	8	9	0
CHA					

Figura 1. Esquema representando el clásico Speller de Farwell y Donchin

Cada sesión consistía en una fase de calibración y una de evaluación. El propósito de la fase de calibración era el de

adaptar la tecnología a usar al usuario. Una vez finalizada la fase de calibración, el sujeto participaba en la fase de evaluación que consistía en escribir la frase en francés “il fait beau” (es decir, “hace bueno”, refiriéndose al tiempo). Al participante se le permitía corregir cada error una sola vez. Después de la tarea de escritura, se le pedía completar un test visual (*Visual Analogue Scale, VAS*) de: cansancio, dificultad, estrés, dificultad en percibir los símbolos, y un test NASA-TLX para evaluar la carga cognitiva.

Al final de la segunda sesión, al sujeto se le pidió expresar sus preferencias entre las dos tecnologías usadas. Para ello, un cuestionario comparativo permitía evaluar 6 parámetros: favorito, complejo, confortable, estresante, controlable y cansino.

2.3. Materiales y tareas

Interfaz Cerebro-Computadora. Las señales EEG fueran registradas a través de 8 canales unipolares en las posiciones: P3, P4, PO8, Fz, Cz, Pz, PO7 y Oz, de acuerdo con el sistema internacional 10/20. El electrodo de referencia se situó en la posición FPz y la tierra en el lóbulo de la oreja izquierda. La señal fue amplificada por un amplificador de 16 canales (g.BSamp de Guger Technologies) y digitalizadas a 256 Hz por una tarjeta de adquisición NI USB-6210 (National Instruments). La adquisición y el procesado de las señales EEG fueron llevados a cabo a través de la plataforma BCI2000.

Durante la fase de calibración, cada fila y columna “flasheaba” aleatoriamente un total de 10 veces. Es decir, cada símbolo era finalmente “flasheado” 20 veces. La duración de cada flash era de 125 ms, siendo el intervalo entre dos flashes de otros 125 ms (*Inter-Stimulus Interval, ISI*). Se estableció una pausa de 6 s para cada ciclo de flashes. La calibración consistió en deletrear las palabras “lune”, “feux” y “kilo” además del número “2015”.

Una vez finalizada la fase de calibración, se llevaba a cabo el procesado de las señales para obtener los pesos del clasificador que permita detectar los potenciales P300 on-line. Una vez finalizado el procesado, daba comienzo la fase de evaluación (ver figura 2), habiéndose escogido el número de flashes necesario como el mínimo que necesitó el sujeto para alcanzar el 100% de éxito durante la fase de calibración.



Figura 2. El participante durante la fase de evaluación del sistema BCI

Eyetracker. El experimento fue llevado a cabo usando el sistema TobiiC15 (Tobii Technology). La matriz de símbolos fue configurada para ser idéntica a la usada con el sistema BCI. En este caso, la fase de calibración consistía en el seguimiento ocular de 9 objetivos localizados en distintas posiciones de la pantalla. Por lo general, el tiempo requerido para esta calibración debería ser bastante reducido. La fase de evaluación daría comienzo únicamente cuando el operador diese por aceptable los resultados en la fase de calibración. Durante la fase de evaluación (ver figura 3), el participante podía seleccionar un símbolo tras dirigir la mirada hacia éste durante un tiempo de 1.6s.



Figura 3. El participante durante la fase de evaluación mediante el sistema de comunicación TobiiC15

2.4. Medidas objetivas y subjetivas

Para comparar las prestaciones del sistema BCI y del eyetracker, se consideraron diferentes medidas objetivas: el tiempo requerido en la fase de calibración, el tiempo requerido en la fase de evaluación, la frase finalmente escrita y el número de errores.

En cuanto a las medidas subjetivas, se analizó los resultados del test NASA-TLX para cada experimento con el fin de evaluar la carga de trabajo. También se analizaron los diferentes valores correspondientes al test visual VAS, así como los cuestionarios comparativos entre los dos sistemas. Todo ello, permitiría obtener una valoración global sobre la usabilidad de cada tecnología.

3. Resultados

3.1. Medidas objetivas

Las distintas medidas objetivas obtenidas para cada tecnología son mostradas en la tabla 1

	BCI	Tobii
Tiempo para la fase de calibración	8 min	5 min
Tiempo para la fase de evaluación	7 min 34 s	7 min 47 s
Frase escrita	IL FAIT BEA7L	IL LFAI7_BEAP65
Número de errores	3	7

Tabla 1. Medidas objetivas obtenidas mediante los sistemas BCI y Tobii

Hay que indicar que el paciente tuvo gran dificultad para fijar la mirada en las distintas localizaciones que exigía el proceso de calibración del Tobii, por lo que la calibración resultó fallida en numerosas ocasiones. Finalmente, ésta fue llevada a cabo considerando exclusivamente el ojo derecho del paciente.

En cuanto al sistema BCI, el participante necesitó de 7 (de un total de 10) flashes (entendiendo por un flash la intensificación de una fila y una columna) para obtener un 100% de éxito en la clasificación durante el proceso de calibración. Finalmente se configuró a 8 el número de flashes necesarios para seleccionar un símbolo durante el proceso de evaluación.

3.2. Medidas subjetivas

Para cada tecnología, la carga de trabajo total (NASA-TLX, puntuación global entre 0 y 100) y las contribuciones de cada dimensión a dicha carga de trabajo (exigencia mental, física y temporal, prestaciones, esfuerzo y frustración; entre 0 y 33.3) son mostradas en las figura 4 y 5 respectivamente.

Global score of of Workload (NASA-TLX test)

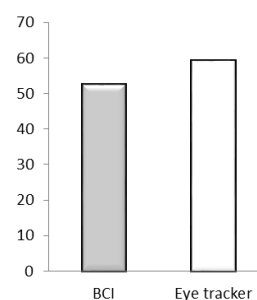


Figura 4. Carga de trabajo total para cada tecnología

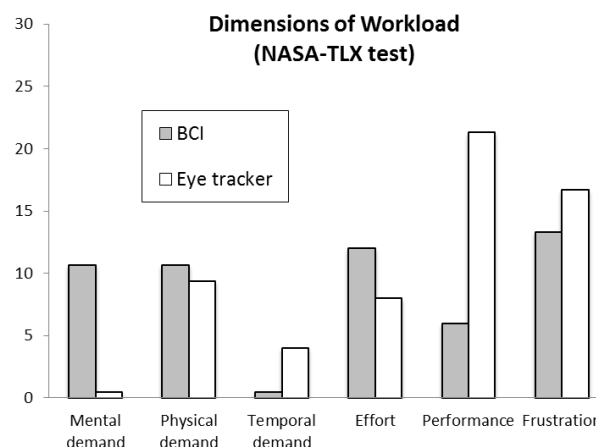


Figura 5. Contribución de cada dimensión a la carga de trabajo para cada tecnología

Los valores obtenidos para las diferentes escalas visuales (Visual Analogue Scale, VAS) y para cada tecnología se muestran en la figura 6.

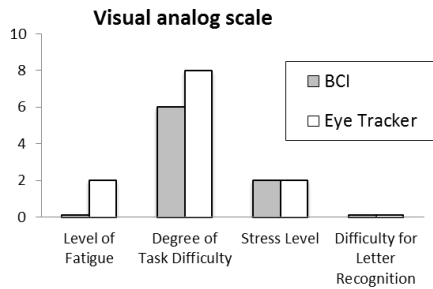


Figura 6. VAS obtenido para cada tecnología

Finalmente, los resultados obtenidos en el cuestionario comparativo son mostrados en la tabla 2.

	BCI	Tobii
Valoración positiva	El más controlable El más confortable El favorito	
Valoración negativa	El más estresante	El menos complejo El más cansino

Tabla 2. Resultados comparativos entre los sistemas BCI y Tobii

4. Discusiones y conclusiones

Durante la fase de calibración, el paciente, no solo tuvo mucha dificultad en seguir con los ojos los distintos objetivos durante la fase de calibración del eyetracker, sino que además tuvo muchas dificultades en mantener los ojos abiertos. Finalmente, la calibración se llevó a cabo con el ojo derecho y ni así, el sujeto logró una buena calibración. Este largo tiempo requerido en la fase de calibración del Tobii ha podido influir negativamente en la fatiga y en la usabilidad de este sistema. Se observa que el tiempo requerido en la fase de evaluación es similar para los dos sistemas sin embargo, el número de errores es bastante mayor para el Tobii. En definitiva, los resultados objetivos muestran que con el sistema BCI se obtienen mejores prestaciones.

En cuanto a las medidas subjetivas, la carga de trabajo requerida para el sistema BCI es ligeramente inferior a la exigida por el eyetracker. La exigencia mental y el esfuerzo requerido fueron dimensiones más altas en el sistema BCI en comparación con el eyetracker. Una causa de esto puede ser el elevado tiempo necesario para seleccionar un símbolo con el sistema BCI (24 s). Sin embargo, el sistema BCI ha requerido menos exigencia temporal, contribuyendo al desarrollo de la tarea y a una menor frustración, teniendo además un efecto positivo en las prestaciones.

En relación a las distintas cuestiones comparativas entre las dos tecnologías (VAS), el sistema BCI no supuso fatiga alguna. Aunque el grado de dificultad en la tarea fue inferior para el sistema BCI, hay que mencionar que los valores obtenidos fueron importantes para las dos tecnologías evaluadas (6 para el BCI y 8 para el Tobii).

Ninguno de los sistemas fue considerado como estresante ni supuso dificultad para reconocer los distintos símbolos.

Los datos obtenidos muestran, para este paciente, una cierta ventaja en el uso del sistema BCI en comparación con el Tobii, opinión que fue trasladada por él mismo.

Resultados recientes obtenidos sobre 12 sujetos concluyen que, para tareas de comunicación, un sistema basado en eyetracker presenta más ventajas que un sistema BCI basado en el P300 [3]. Dichos resultados establecen el eyetracker como la mejor alternativa. Precisamente, los resultados presentados en este trabajo son distintos, y nos permiten concluir que la tecnología BCI no debe ser descartada como solución alternativa para aquellos pacientes que presentan cierta dificultad, no solo para controlar el movimiento de sus ojos, pero también en el manejo de un eyetracker. Aunque los resultados han sido obtenidos sobre un único paciente, estos muestran que la tecnología siempre debe ser testeada y adaptada a cada usuario, no debiendo establecerse una tecnología específica como la más apropiada sin antes ser probada por la persona.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad y por los fondos Europeos FEDER a través del proyecto LICOM (DPI2015-67064-R(MINECO/FEDER)).

Referencias

- [1] Käthner, I., Kübler, A., & Halder, S. Comparison of eye tracking, electrooculography and an auditory brain-computer interface for binary communication: a case study with a participant in the locked-in state. *Journal of neuroengineering and rehabilitation*, 12(1), 76 pp. 1-11 (2015).
- [2] Spataro, R., Ciriaco, M., Manno, C., & La Bella, The eye-tracking computer device for communication in amyotrophic lateral sclerosis. *Acta Neurologica Scandinavica*, 130(1), pp. 40-45 (2014).
- [3] Farwell L.A. and Donchin E., "Talking off the top of your head: toward a mental prosthesis utilizing event-related potentials," *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, vol. 70, no. 6, pp. 510-523, 1988.
- [4] Bianchi, L., Sami, S., Hillebrand, A., Fawcett, I., Quitadamo, L., Seri, S.: Which physiological components are more suitable for visual ERP based brain-computer interface? A preliminary MEG/EEG study. *Brain Topography*, 23(2), pp.180-185, (2010).
- [5] Pasqualotto, E., Matuz, T., Federici, S., Ruf, C. A., Bartl, M., Belardinelli, M. O., ... & Halder, S. Usability and workload of access technology for people with severe motor impairment a comparison of brain-computer interfacing and eye tracking. *Neurorehabilitation and neural repair*, 29 (10) pp. 950-957(2015).
- [6] Nielsen, J.: What is Usability? In 'Usability Engineering', Cambridge, MA: Academic Press, pp. 23-48 (1993).

Development of a Test-Bench for the Accurate Positioning of Scintillation Detector Modules for Medical Imaging Applications

O. Sacristán de Frutos¹, G. García Anduaga², V. Petuya Arcocha²

¹ Mechanical Engineering and Materials Group, European Organisation for Nuclear Research, Geneva, Switzerland, oscar.sacristan@cern.ch

² Department of Mechanical Engineering, University of the Basque Country, Bilbao, Spain, victor.petuya@ehu.eus

² Department of Systems Engineering and Automatics, University of the Basque Country, Bilbao, Spain, g.garcia@ehu.eus

Summary

When assessing the impact of novel concepts of scintillation block detectors for PET tomography by measuring the performance of single modules, or one module in coincidence with another, it is not trivial to translate the results of these investigations into a real PET scanner, made of several rings of modules. In particular, the real sensitivity, the signal to noise ratio of reconstructed images, and the spatial resolution (especially in the areas far from the center of field of view) among others are very critical to understand how good a PET scanner will perform for a real patient, and they are specific of the fully assembled scanner. Hence, demonstrating that a new idea under development is worth implementing in a real scanner requires more than just a measurement with two modules one in front of the other. For this reason, the set-up described in the present work will permit to reproduce full ring conditions using only a few modules at the price of a very good positioning accuracy.

1. Motivation

The aim of the present work is to ease and accelerate the implementation of novel concepts in positron emission tomography (PET) and cut the costs associated to the prototyping phase. For this purpose, it was developed and manufactured a test-bench capable of mimicking real full ring acquisitions of a PET system using only two blocks of detectors or groups of detectors. The proposed solution is an autonomous mechatronic system consisting on two polar arms that move independently to position accurately the detectors along predefined trajectories. The possibility to mimic the positions of the crystals along the theoretical locations of the detectors in a small animal PET device will result in reduced costs and faster development of novel scintillators and detectors for PET imaging by mimicking the positions of the crystals along the theoretical locations of the detectors in a small animal PET device. The scope of the project ranges from the preliminary studies to the commissioning of the test-bench, and included the selection of the most appropriate actuators, the necessary structural calculations, the design of the mechanical parts, and the development of a methodology for the evaluation and testing of the test-bench.

2. Problem definition

Most of the research performed nowadays on PET scintillation consists assessing the impact of new ideas by measuring the performance of single modules, or one module in coincidence with another. Translating the results of these investigations into a real PET scanner made of several rings of modules is not trivial. In particular, the real sensitivity, the signal to noise ratio of reconstructed images, and the spatial resolution (especially in the areas far from the center of field of view) among others are very critical to understand how good a PET scanner will perform for a real patient, and they are specific of the fully assembled scanner[1]. Hence, demonstrating that a new idea under development is worth implementing in a real scanner requires more than just a measurement with two modules one in front of the other. For this reason, the set-up described in the present work will permit to reproduce full ring conditions using only a few modules at the price of a very good positioning accuracy.

3. Design description

The complete test set-up consists in two detector modules, which will include both the block detectors (one or more depending on the configuration) as well as the ancillary PCB boards for the data acquisition. Each one of these detector modules will be mounted on one polar arm able to rotate independently and follow automatically trajectories defined by the user. A source in the shape of a point or a phantom, depending on the needs and objectives of the tests will be placed in the centre of the set-up.

As depicted in figure 1, the test-bench is composed of a bottom base (figure 2a) meant to be bolted to an optical table or breadboard. Four columns (figure 2b) bolted to the upper surface of the base support the bottom rotary actuator (figure 2c).

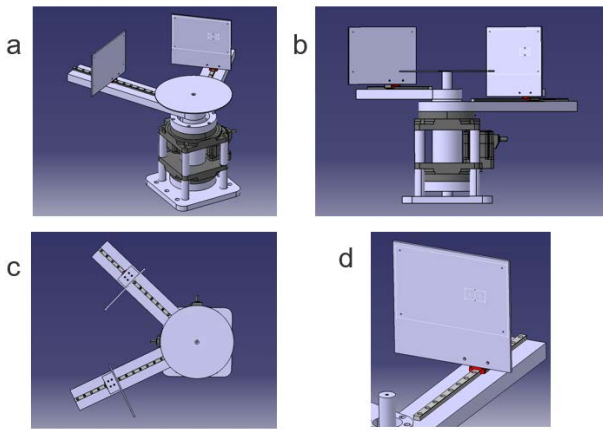


Figure 1. Different views of the test-bench

The bottom rotary actuator is mounted upside down, and from the top surface of its flange depart four additional columns devoted to support the top rotary actuator.

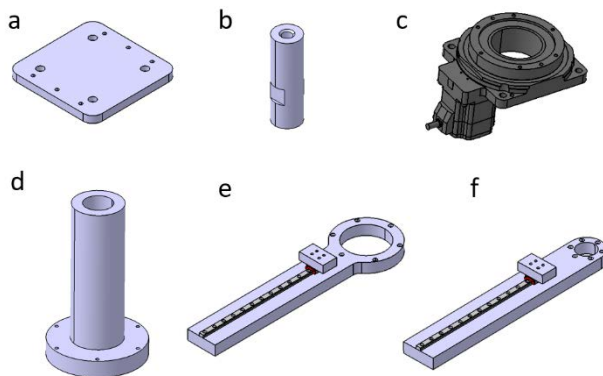


Figure 2. Mechanical components of the test-bench

On the table of the bottom rotary actuator is mounted a hollow axis (figure 2d) which goes through the bodies of both actuators and drives the top arm (figure 2f) of the test-bench. The bottom arm (figure 2e) of the set-up is directly mounted on the table of the top rotary actuator.

The arms of the set-up are equipped with linear guides (visible in figures (figure 2) e and f) that allow the radial positioning of the detectors. The slider of the linear guides is equipped with different plates (figure 2d) in accordance with the kind of PCB boards and block detectors to be mounted.

The set-up is completed with a central column affixed to the base plate which goes through the hollow axis and serves as a support for the source platform.

3.1. Use

The main goal of the test-bench is to allow the recording of full ring PET scans by using a minimum of two detectors. For this reason, the intended purpose of the set-up is to position the detectors of each of the two arms in a series of preprogrammed positions.

Prior to a scan, several parameters should be defined:

- Radial position of the detectors: It is defined as a function of the object to be scanned and other acquisition parameters.
- Angular pitch of the acquisition: In order to cover the full circumference, this parameter is calculated as a function of the radial position of the detectors (R), and the width of the detectors itself ($DWidth$) (figure 3.10):

$$\alpha = R \times DWidth$$

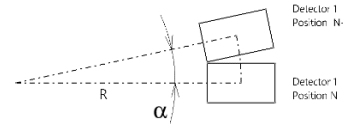


Figure 3. Pitch definition as a function of the radial position and the detectors width

Relative initial and final position of the arms: Due to the space taken by the PCB, that surrounds the detectors, the angles between the arms at the beginning and end of each acquisition step will be bigger than the angles allowed solely by the detectors. This is a parameter that involves the safety of the test-bench and must be carefully determined after the mounting of a new detector.

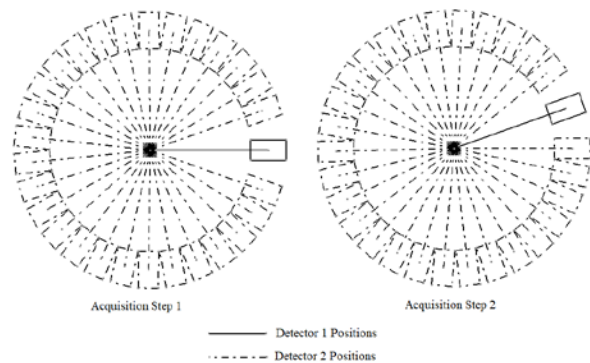


Figure 4. Schematics of the first two acquisition steps

The most usual positioning routine consists in mimicking the positions of the crystals in a full body scan. The most efficient way to do this is to perform consecutive acquisition steps in which one of the arms of the test-bench will have a fixed position, while the second arm will follow a series of positions (sub-step) around the subject as shown in figure 4.

Upon the arrival of the arms to a target position, the set-up will send a trigger to the acquisition system ("record trigger") in order to communicate that the detectors are in the correct position, and the recording can start. Whenever the quantity and quality of the acquired data is judged to be enough, the acquisition system will send a trigger ("jog trigger") to the test-bench which will move the arms to the next target position.

4. Evaluation

The verification of the functionality of the proposed solution against the stated requirements, as well as further validation will be based on the experimental assessment of the built prototype.

Amongst all the measurable mechatronic parameters, a number of them is considered as critical, as long as either they are part of the specifications, or are the result of the combination of multiple parameters and can greatly determine the performance of the set-up. Therefore its characterization must be promptly done:

- Accuracy
- Unidirectional repeatability

The evaluation of this set of parameters will not only permit a clear assessment of the performance of the test-bench, but also to undertake the necessary corrective actions.

The experience in the usage of the set-up or a different usage than the one described in previous chapters might unveil the need to characterize other parameters

4.1. Testing methods

Two possible approaches are proposed in the present work. The first one is a classic method described in ISO 9283[2] standard, using a coordinate measuring machine or laser scanning triangulation (trilateration).



Figure 5. Coordinate measuring machine (a) and laser scanning triangulation de-vice (b) (Image: Mitutoyo/Leica)

An alternative to the classical approach is the solution described by Pierce et al.[3] determination of the six degrees of freedom for block detector positioning errors by utilizing a rotating point source over stepped axial intervals.

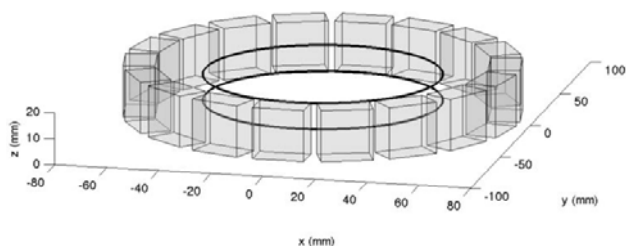


Figure 6. Side view of the MiCES scanner detector ring illustrating two axially-stepped rotational paths of the point source.

The proposed experimental set-up uses a commercially available 1 mm diameter ^{22}Na point source that is rotated within the detector ring at stepped axial intervals. The radius of rotation and the axial offset is determined by the geometry of the scanner to be calibrated. In the experiment described by the previously mentioned article, for the MiCES scanner a rotational radius of rotation of 45

mm, and an axial offset of 10 mm were chosen, as shown in figure 6.

5. Current status of the project

As of the date of this paper, the study phase has been finalised, comprising preliminary studies, mechanical design and control architecture definition. The procurement of the actuators has been completed, and its functionality has been validated in laboratory tests. The manufacturing of the mechanical parts is ongoing.

The assembly of the set up as well as the first validation tests are to be performed during the first quarter of 2018.

Acknowledgements

I must express all my gratitude towards one of my colleagues at CERN MME Group, Tommi Mikkola, for his infinite patience and teachings when reviewing the design and drawings of the mechanical parts.

References

- [1] D. W. Townsend, "Basic Science of PET and PET/CT," in *Positron Emiss. Tomogr.*, Springer London, 2006, pp. 1–16.
- [4] ISO, "ISO 9283:1998 Manipulating industrial robots -- Performance criteria and related test methods," Geneva, Switzerland, 1998.
- [2] L. Pierce, R. Miyaoka, T. Lewellen, A. Alessio, and P. Kinahan, "Detector Position Estimation for PET Scanners.," *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. A.*, vol. 677, pp. 74–79, Jun. 2012.

CÉLULA ROBOTIZADA DE BAJO COSTE PARA REALIZAR TINCIONES DE GRAM DE FORMA AUTOMÁTICA

J. Soto Rudas¹, C. Peña Cortés², L. Mendoza³

¹ SIARC - Grupo de Automatización y Control, Departamento de Ingeniería Mecánica, Mecatrónica e Industrial, Universidad de Pamplona, Pamplona, Colombia, ingmecajuan@gmail.com

² Grupo de Automatización y Control, Departamento de Ingeniería Mecánica, Mecatrónica e Industrial, Universidad de Pamplona, Pamplona, Colombia, cesarapc@unipamplona.edu.co

³ Grupo de Ingeniería Biomédica, Departamento de ingeniería Eléctrica, Electrónica, Sistemas y Telecomunicaciones, Universidad de Pamplona, Pamplona, Colombia, luis.mendoza@unipamplona.edu.co

Resumen

En este artículo se presentan los resultados alcanzados en la construcción de una celda robótica para hacer tinciones de Gram sobre bacterias. Se muestra una breve descripción del proceso de tinciones, una descripción de la automatización del proceso, el diseño del equipo biomédico, su estructura, análisis cinemático y el desarrollo de la interfaz hombre máquina. Finalmente se muestran los resultados obtenidos, donde se pudo corroborar el correcto funcionamiento del mismo frente a los requerimientos del proceso. Con la construcción de este dispositivo se pudo constatar que es posible automatizar este tipo de procesos disminuyendo la inversión directa del personal hospitalario y disminuyendo los riesgos biológicos que pueden ocurrir.

1. Introducción

La ingeniería biomédica es considerada como la integración de la ingeniería y las ciencias de los organismos vivos, con esa idea construir una celda robótica que acondiciona agentes microscópicos (bacterias) busca dar un aporte al avance de esta disciplina, esto debido a que actualmente en Colombia existe un uso ineficiente de los recursos tecnológicos [1].

En el desarrollo de nuevas tecnologías, maquinarias y equipos, la biomédica está dando grandes adelantos. Estos proyectos se están manejando con interfaces HMI, permitiendo una comunicación entre el equipo y el personal que lo maneja como forma de elemento transductor [2].

Para la microbiología clínica los procesos de tinciones resultan de gran utilidad, esto debido que permiten obtener los resultados a partir de muestras clínicas, y luego obtener las características de las muestras para que finalmente se realice la clasificación de las bacterias [3].

Otra de las ramas en las que se aplican las tinciones de Gram es en el análisis de las bacterias de tuberculosis que constituyen un gran problema de salud pública a nivel mundial [4]. El proyecto pretende brindar mayor seguridad a las personas, esperando como desenlace que esta investigación genere un aporte a los procedimientos

médicos hospitalarios, y de forma similar a la ingeniería genética [5] en la búsqueda de nuevos organismos.

Las tinciones de Gram es un procedimiento del diario vivir del personal profesional en el área de laboratorios clínicos y análisis de bacterias, lo cual puede ser causante de posible estrés laboral producido por la repetitividad de este tipo de tareas, dando como desenlace errores humanos que aumenta cada vez más en las instituciones de salud [6].

El presente trabajo busca la inclusión de un nuevo dispositivo de fácil uso y con un bajo costo económico debido a la falta de presupuesto para la salud en Colombia [7,8], evitando que se presten servicios de buena calidad [9].

Diferentes trabajos se han realizado usando el procesamiento de imágenes en datos microbiológicos. Es posible que utilizando diferentes técnicas matemáticas se logre desarrollar una herramienta computacional que ayude a obtener resultados más eficientes y a bajo costo [10,11], siendo estas técnicas una posible proyección a futuro para este proyecto.

El artículo se encuentra organizado de la siguiente manera: en la sección 2 se presenta los materiales y métodos planteados para realizar los procesos de tinciones Gram, la sección 3 muestra los resultados que hasta ahora se han obtenidos, la sección 4 presenta las conclusiones a las que se han llegado y finalmente una discusión.

2. Materiales y métodos

2.1. Elementos empleados para el desarrollo

Para la selección de materiales se consideró una construcción amigable con el medio ambiente donde los principales recursos estructurales fueron: el PLA que es un polímero biodegradable y fibra de madera aglutinada (MDF); se utilizaron dos Arduino maestro-esclavo encargados de la parte control, servomotores para el accionamiento del brazo, módulos de relés destinados para la etapa de potencia y unas electrobombas para el suministro de los reactivos.

2.2. Proceso de tinciones de Gram y su automatización.

2.2.1 Las tinciones de Gram.

El proceso de tinción es un método que permite al analista realizar una óptima visualización de las bacterias y con esto poder clasificarlas.

Intentar clasificar las bacterias directamente sin antes pasar por este método es algo muy complicado. Para dar le solución a esto se utiliza el proceso de tinciones de Gram, que si es seguido rigurosamente permitirá visibilizar los microorganismos u observarlos con mejor nitidez. La idea de este robot es realizar el método paso a paso para que las bacterias puedan ser analizadas y clasificadas.



Figura 1. Muestra con hisopo-Frotis sobre el portaobjeto.

El proceso para realizar las tinciones consta de primeramente realizar un frotis sobre un portaobjeto de vidrio limpio y seco. Con un hisopo se toma una pequeña muestra del cultivo y se hace una mezcla con agua o una solución salina, luego es esparcida uniformemente sobre el portaobjeto (ver Figura 1).

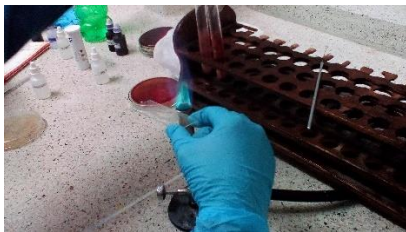


Figura 2. Fijación de las bacterias.

El paso siguiente es fijar las bacterias con calor (como en la Figura 2), se acerca levemente el portaobjeto a un mechero y se espera hasta que seque, esto también se puede introducir dentro de un horno o esperar al medio ambiente, todo depende de la rapidez con la que se deseen los resultados [12].

Seguido se continua con el proceso de tinción de Gram (Figura 3) planteado por [12]:

1. Se deposita cristal violeta a las bacterias y se deja secar por un minuto.
2. Durante aproximadamente dos segundos se debe lavar con una corriente suave de agua.
3. Se añade yodo de Gram y se espera por un minuto.
4. Durante aproximadamente dos segundos se debe lavar con una corriente suave de agua.
5. Agregar un agente decolorante y luego de 15 a 30 segundos se remueve con agua.
6. Se deposita safranina y se espera de 30 segundos a un minuto.

7. Limpiar el portaobjeto con una dosis considerable de agua hasta remover todo el líquido. Finalmente secar suavemente con un papel absorbente.
8. Para observar los resultados del proceso al microscopio es necesario añadir aceite de inmersión. Al terminar la tinción de Gram, las bacterias Gram-negativas mancharán de una coloración rosadas/rojas y las bacterias Gram-positivas mancharán de azul/purpura.

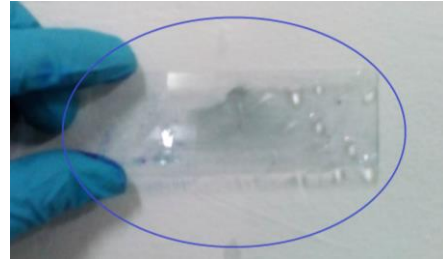


Figura 3. Proceso de tinciones de Gram.

2.2.2 Automatización del proceso

En la búsqueda seguridad y estandarización de este proceso mencionado en el ítem anterior se creó un proceso autónomo.

Por seguridad, para que el proceso pueda iniciar todas las compuertas de la cabina deben estar cerradas.

Inicialmente a el robot se le ubicará el portaobjeto en la posición inicial. El primer movimiento que se hará es el del brazo robótico antropomórfico de 4 grados de libertad, cuya misión será la de ir por el portaobjeto que contiene las bacterias, pasando por un pequeño horno donde permanecerá aproximadamente 70 segundos a una temperatura de entre 80 °C y 90 °C.

En este proyecto es mejor utilizar un horno para fijar las bacterias, debido a la generación de gases contaminantes que puede emitir un mechero.

La segunda estación está integrada por los siete primeros pasos del proceso de tinciones de Gram, los reactivos se almacenarán en unos silos, y sus suministros serán controlados por unas electrobombas. Este proceso tiene una duración aproximada de 400 segundos.

Una vez finalizado el recorrido por los reactivos se procederá a dejar ubicado el portaobjeto con las bacterias en la compuerta de final de proceso. Un profesional en el área entrará a realizar el análisis y la clasificación de las bacterias de acuerdo a la coloración y forma que adoptaron una vez finalizado el desarrollo del proceso.

2.3. Diseño e implementación del robot propuesto

El diseño fue desarrollado considerando cada etapa del proceso, la distribución del óptimo espacio de trabajo y flexibilidad.

El proyecto incluye un brazo robótico antropomórfico cuya función principal es la de ubicar el portaobjeto en cada punto de trabajo y siguiendo un estricto orden.

2.3.1 Diseño del brazo robótico.

Se inició con el desarrollo del prototipo principal que es el brazo robótico antropomórfico de 4 grados de libertad (ver Figura 4), el cual tiene como característica principal de diseño la inclusión de rodamientos de cargas axiales para cada articulación, esto con la idea de mejorar la estabilidad y el rendimiento del mismo, además de reducir la carga que se les deposita a los motores.

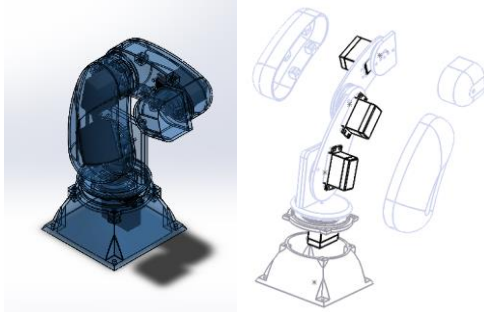


Figura 4. Diseño del brazo robótico antropomórfico de 4 grados de libertad.

2.3.2 Diseño de estructural de la celda.

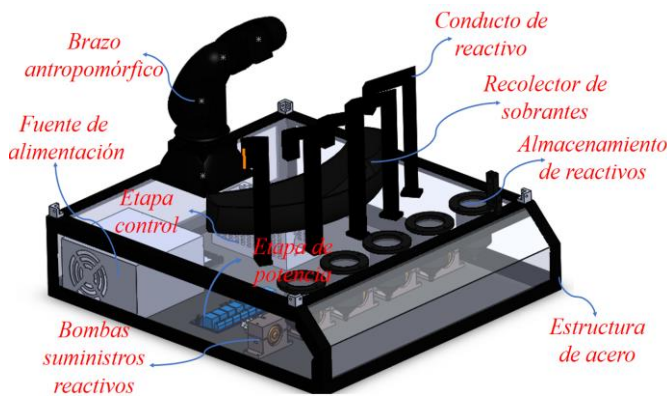


Figura 5. Diseño final de la celda robótica para el proceso de tinciones de Gram.

Se buscó una estructura compacta, segura y rígida. El espacio de la estructura es el ideal para el correcto desarrollo de las tinciones de Gram, con una distribución de los suministros en forma radial para acoplarse con el área de trabajo del brazo robótico articular (como en la Figura 5).

2.3.3 Análisis cinemático y dinámico

El análisis cinemático permite tener el control del brazo robótico y ubicarlos en el espacio X-Y-Z junto con una orientación del efector final, que para este caso es la herramienta que sostendrá el portaobjetos.

Se utilizó la cinemática directa que fue calculada utilizando el algoritmo de Denavit–Hartenberg, cuya función es ubicar el robot dándole ángulos a cada articulación. Seguido se utilizó la cinemática inversa por el método geométrico, cuya función es ubicar el robot

espacialmente. Combinando estos métodos se obtuvo el posicionamiento del brazo [11,12].

Se realizó el cálculo del modelo dinámico inverso del robot utilizando el método recursivo Lagrange-Euler [15], donde se obtuvo un resultado con la estructura que se muestra en la ecuación 1. En esta se observa: τ que es la vector de torque, D- la matriz de inercia, H- las fuerzas de Coriolis, C- la fuerza de gravedad y q- las variables articulares.

$$\tau = D(q)q'' + H(q, q') + C(q) \quad (1)$$

Este modelo permitió realizar un simulador donde se pudo analizar los posibles comportamientos del robot y calcular los máximos pares requeridos durante las trayectorias (ver Figura 9).

Luego de las verificaciones en el simulador se pudieron obtener los máximos pares necesarios para los motores y de esta forma hacer proceso de selección e implementación.

3. Resultados



Figura 6. Célula robótica.

Se terminó la construcción de la célula teniendo en cuenta todas las características de diseño (como en la Figura 6), La programación está integrada por las cinemáticas y las trayectorias del brazo, y un enlace con una interface HMI (ver Figura 7) que es intuitiva al manejo, donde no es necesario tener conocimientos en programación para su uso.

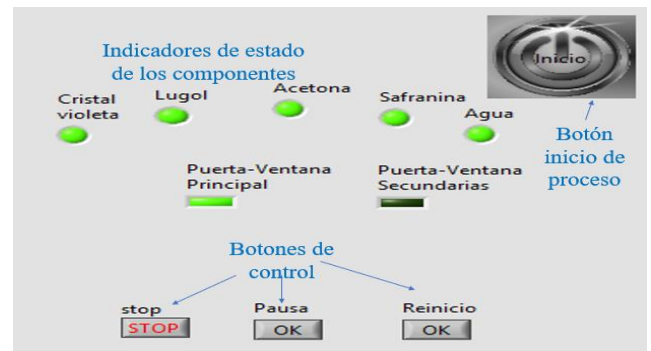


Figura 7. Interface HMI.

Se probó el funcionamiento de la celda, obteniendo una fluidez en los movimientos acorde a la aplicación y ubicándose en los puntos deseados (Figura 8).

Se realizó una prueba donde se tomó el tiempo que dura una persona realizando el proceso manual, seguido lo

realizó el robot y se obtuvo que el robot mostró una reducción en tiempo de aproximadamente un 50% (Tabla 1). En la (Figura 9) se observa el comportamiento articular arrojado por el simulador, donde se pudo corroborar que no hubiera colisiones ni interferencia.



Figura 8. Funcionamientos.

segmento	Descripción	t. Celda	t. Manual
a	Recoger el porta objeto	25 seg.	70 seg
b	Fijación de la bacteria	45 seg.	125 seg.
c	Primer reactivo y remoción.	100 seg.	210 seg
d	Segundo reactivo y remoción.	93 seg.	210 seg.
e	Tercer reactivo y remoción.	65 seg.	105 seg.
f	Cuarto reactivo y remoción	60 seg.	105 seg.
g	Posición final.	15 seg.	0 seg.
	Total	403 seg	825 seg

Tabla 1. Tiempos del proceso manual frente automatizado.

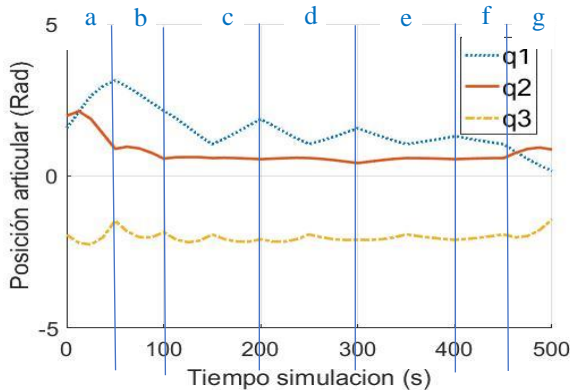


Figura 9. Grafica simulada del comportamiento en la articulación q3.

4. Conclusión

El proceso de tinción usando un sistema mecatrónico, permitió obtener resultados satisfactorios ya que se evidencia que los tiempos mejoraron aproximadamente un 50%, por otro lado, los avances obtenidos hasta el momento permiten evidenciar que la aplicación puede ser utilizada por los expertos con el fin de tener mejor exactitud en el proceso de tinción.

Los elementos utilizados cumplieron de manera importante su función al punto donde el proceso de

tinción se llevó a cabo de manera eficiente y exacta, comparados con los resultados manuales.

Debido al uso de los rodamientos de cargas axiales, el brazo robótico desarrolló un mejor desempeño.

5. Discusión

Considerando la reducción de tiempo que se llegó a obtener aplicando las tinciones en la celda robótica es notable que se obtiene una ventaja en comparación al proceso manual, a esto se le añade el bajo presupuesto invertido, y se llega a un robot con una buena funcionalidad.

El robot realiza en un 100% las trayectorias obtenidas con los cálculos y podría brindar una reducción de los posibles riesgos por contacto bacteriano.

6. Referencias

- [1] K. Bastidas, O. Bermúdez, and F. Obando, "Process of Acquisition and Renovation of Biomedical Technology", *Rev. Ing. Biomédica*, pp. 79–83, 2017.
- [2] F. Simini, "Ingeniería Biomédica perspectivas desde el Uruguay", Universidad de la Republica Oriental del Uruguay, 2007, (ISBN 978-9974-0-0367-5).
- [3] L. López, M. Hernández, A. Colín, S. Ortega, G. Cerón, and R. Franco, "Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología," *Rev. Investacion. en discapacidades*, vol. 3, no. 1, pp. 10–18, 2014.
- [4] N. Alvis, M. Carrasquilla, V. Gómez, J. Robledo, N. Alvis, and J. Hernández, "Precisión diagnóstica de tres pruebas moleculares para detectar la tuberculosis multirresistente," *Rev. Biomédica*, vol. 37, pp. 397–407, 2017.
- [5] D. Pires, S. Cleto, S. Sillankorva, J. Azeredo, and T. Lu, "Genetically Engineered Phages : a Review of Advances over the Last Decade," *Rev. Microbiology and Molecular Biology Review*, vol. 80, no. 3, pp. 523–543, 2016.
- [6] D. Arias, J. Camacho, and J. Osorno, "Mejora de habilidades en la seguridad del paciente implementando una estrategia de entrenamiento en el personal asistencial," *Rev. Ing. Biomédica*, vol. 10, no. 20, pp. 21–25, 2017.
- [7] M. A. Ardila and A. Gómez, "Metodo de Incorporación Estratégica de tecnología Biomédica para Instituciones de Salud", *Rev. Ing. Biomédica*, Vol 10, pp. 35–42, 2016.
- [8] M. Cardona, A. J. Márquez, and C. A. Peña, "Design, Construction and Implementation of a Multifunctional Robotic Platform With Educational Purpose", *Rev. Entre Ciencia e Ingeniería*, no. 16, pp. 9–15, 2014.
- [9] C. Castaño and L. Pérez, "Análisis comparativo de modelos de gestión de tecnología biomédica," *Rev. Ing. Biomédica*, vol. 9, no. 18, pp. 41–49, 2015.
- [10] J. Sánchez, "Procesado Digital de imagen para la estimación del área ocupada por microorganismos sobre probetas de cemento y yeso", T. Grado, Universidad Politecnica de Valencia, 2016.
- [11] A. García, T. Annia, C. Elio and Q. Odalis, "Histochemistry distribution of mucins and number of leucocytes in the lungs of postweaning pigs exposed to E. coli lipopolysaccharide (LPS)" *Rev. Journal of Agriculture and Animal Sciences*, vol. 6, no. 1, pp. 60–73, 2017.
- [12] A. Smith and M. Hussey, "Gram Stain Protocols", *Rev. American Society for Microbiology*, May 2017, pp. 1–9, 2016.
- [13] J. Duran, C. Peña, and O. Gualdrón, "Design Of Robotic Systems For Fig Classification with Educational Aims", *Rev. Redes de Ingeniería*, pp. 66–79, 2013.
- [14] D. Lopez, J. Hernández and C. Peña, "Advances in the control of bipedal platforms using the system", *Rev. Colombiana de Tecnologías de Avanzada*, Vol 2, N. 22, pp 117-124, 2013.
- [15] P. Contreras, C. Riaño, and C. Peña, "Robotic Module for Lulo (Solanum Quitoense) Classification Using Computer Vision," *Rev. Ing. CUC*, vol. 10, pp. 51–62, 2014.

Towards an Objective Criteria for the Diagnosis of Parkinson Disease Based on Speech Assessment

J. Teixeira¹, L. Soares¹, M. Miguel¹, P. Martins¹, S. Reis^{1,2}, L. Coelho^{1,2} and C. Lopes³

¹ Department of Physics, Instituto Superior Engenharia do Porto, Portugal, {1160(321/296/299/308), sss, lfc}@isep.ipp.pt

² CIETI – Instituto Superior de Engenharia do Porto, Portugal

³ LEMA and CEOS.PP, ISCAP – Politécnico do Porto, Portugal, cristinalopes@iscap.ipp.pt

Abstract

Parkinson's disease is a progressive neurodegenerative disease whose symptoms increase in severity with age. Loss of muscle control, with implications for speech, is one of the main complications associated with this disease. In this article we present an analysis of continuous speech signals in which the effects of this pathology are identified and characterized in the phonation process. The preliminary analysis is based on a stochastic and comparative baseline methodology, where records of informants with Parkinson's and asymptomatic informants are explored. The obtained results showed that in individuals with Parkinson's, the parameters Shimmer local and Shimmer apq11, suffer the most significant changes when compared with identical parameters in healthy individuals. The identification of these characteristics in Parkinson's patients, as well as the observed discriminatory capacity, may be the basis for a new non-invasive and low-cost methodology for the early diagnosis of this pathology.

1. Introduction

Neurodegenerative diseases, without a known cure, are characterized by the progressive dysfunction and atrophy of central nervous system structures, leading to loss of movement and, in other cases, to dementia [1]. Parkinson's disease (PD), the focus of your study, is the second most common neurodegenerative disease in the world and it is estimated that the number of patients continues to increase until year 2030 [2]. Incoordination in muscle control is one of the major problems arising from Parkinson's and therefore changes in speech fluency due to degenerative processes in associated neurons are often evident. The fact that degenerative processes are progressive and increase in severity with age, makes patients increasingly weak and in greater need of support for the performance of their daily tasks. Late detection of this disease limits the effectiveness of treatment options. The diagnoses, at the neurological level, are expensive, uncomfortable and often used in a stage where clinical symptoms are already visible. Thus, it is paramount to develop new practical low-cost techniques that allow the detection of symptoms in a pre-clinical stage so that the necessary therapy processes can be initiated, maximizing their effectiveness and providing a longer quality of life for the patient. Speech signals can be of particular interest for our purposes because they are very easy to acquire and they present highly regular acoustic-phonetic patterns over time [3,4].

It is well documented that the natural human aging process may cause acoustic modifications on the voice, however, PD and its early appearance accentuate these changes, having a very pronounced and negative repercussion in the affected individuals [5]. Hypokinetic is the most described symptom, however, others may be less perceptible, but they have a relevant importance in the detection since they are present at a very early stage of the disease, specifically dysphagia, dysarthria or dysarthrophony [6]. According to [7], patients with PD may present lower vocal tessitura and slower melodic variation, comparing with healthy individuals.

In [8], 26 adults with PD were submitted to laryngeal electromyography exams and vocal acoustic analysis. After collection of action potentials, both in vocal rest as well as in phonation, distinct results were found. A hypercontractibility electromyographic pattern was detected during vocal rest without evidences of vocal tremors. However, the spectrogram analysis of the acoustic signal showed several vocal tremors, in fact, this was the predominant characteristic of the target group, without correlation with the electromyographic data [8]. This brings concerns about the fallibility of some screening tests and introduce doubts on possible diagnosis of PD.

In the study of [9], a statistical difference in Pitch amplitude was determined between two groups. In the PD patients group, 80.77% had a value lower than 0.3, while in the control group only 12.28% presented values below 0.3. However, according to [10], some voice features are not a reliable indicator to determine PD, as they have many similarities with healthy individuals.

The i-Prognosis project aims to develop an early detection methodology for PD based in a mobile application that will monitor the interaction of users with technology and will track several parameters that may indicate the onset of the disease. In a possible pathology detection, the user is advised to seek a doctor [11].

There is an agreement on the importance of evaluation of speech as a differential PD diagnostic tool, however, there is still a gap in relation to the objective definition of acoustic patterns that characterize the disease [6]. It is essential to determine, in the totality of the acoustic features, the most relevant ones.

In this paper, we propose a new method for the detection of Parkinson's disease in pre-clinical conditions based on the analysis of speech characteristics, using a stochastic approach that allowed to identify the best feature set for maximizing the discrimination between pathological and non-pathological classes.

2. Methodology

2.1. Pipeline

The different steps of the proposed method are outlined in Figure 1 and its main functions are: 1) Use audio recordings (speech, short phrases), previously stored in a database (DB), to identify the typical speech pattern in people with a medically confirmed PD diagnose; 2) Audio recording (speech, short phrases) of healthy people for later comparison; 3) Use of Praat software [12] for extracting features from the audio signal; and 4) Statistical processing of the parameters registered in the features, identifying which are the indicators of propensity for PD.

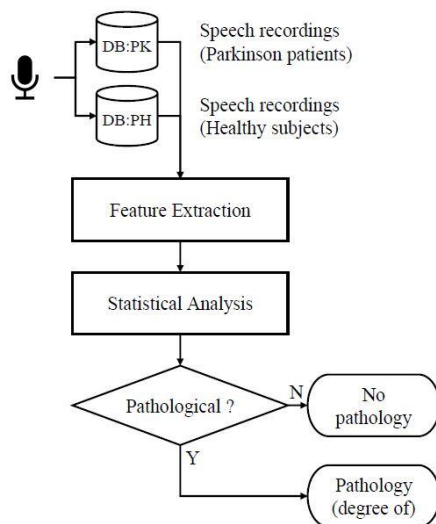


Figure 1. Pipeline for the detection of PD through speech.

2.2. Materials

For the development of this method, a speech database of PD patients was kindly provided by Professor Perdigão and his team [4]. The database was composed by several speech recordings from 22 patients (10 males and 12 females) aged between 44 and 79 years. Subsequently, to build a reference group, a similar acquisition was made in 22 healthy individuals (11 males and 11 females) aged between 20 and 73 years. Everyone contributed with different speech sentences, very short and objective.

2.3. Feature Set

For pitch estimation and feature extraction we have used the Praat software [12] that have allowed to obtain eighteen features grouped into four classes: a) Pitch, which is defined as the percussive sensation of the fundamental frequency. The software returns four features related to this class: PitchMed, PitchSDev, PitchMin and PitchMax [12,13]; b) Jitter and c) Shimmer, and derived indicators, are the most commonly used parameters for

acoustic analysis [12]. These are indicative of vocal regularity on short pre-defined time intervals. Jitter indicates a disturbance in the fundamental frequency, whereas Shimmer indicates a disturbance in the amplitude. The software returns five values of Jitter (Jitter local, Jitter local absolute, Jitter rap, Jitter ppq5 and Jitter ddp) and six Shimmer values (Shimmer local, Shimmer local in dB, Shimmer apq3, Shimmer apq5, Shimmer apq11 and Shimmer ddp) [12-14]; d) Harmonic-to-Noise Ratio (HNR), also referred to as harmonic, represents the degree of acoustic periodicity of the signal and it is used to evaluate signal-to-noise ratio and voice quality. The respective unit of this parameter is displayed in dB. In the software, three types of HNR are analyzed: Hnr mean autocorrelation, Noise-to-harmonics ratio mean (Nhr) and Harmonics-to-noise ratio mean (Hnr). All the details for parameter calculation can be found in the Praat documentation [12].

2.4. Statistical analysis methods

After processing and extraction of the features, the data was organized into two populations: 1) Healthy Population – PH, and 2) Population with Parkinson's disease – PK.

The objective of this study was to test the following hypothesis formulated: The mean of each feature of the PH is different from the mean of each feature of the PK. For this propose, a feature analysis of each population was done with statistical method ANOVA.

ANOVA, or analysis of variance, is used to test hypotheses about population means. The main purpose of this method is to identify important independent variables and determine how they affect the response [15]. To apply this test, it is necessary to have the following assumptions: a) Samples are random and independent of each other; b) Underlying populations are normally distributed; c) Underlying population variances are equal.

The one-way ANOVA method was applied in this work to check if there are significant differences between the features of PH and the features of PK, and which features present greater variability between one population and another. For this propose, two hypotheses are considered: 1) Null hypothesis (H_0) – All population means are equal; and 2) Alternative hypothesis (H_1) – There are significant differences in the population means.

Considering the formulated hypothesis, ANOVA will indicate features that present different means between the PH and the PK if the following conditions are satisfied:

$$P < 0.05 \Leftrightarrow F > F_c$$

where F is the test statistic, F_c is the critical value of the Fisher distribution for 5% significance (which in this case is $F_c=3.9258$), and P is p-value of each test.

3. Results

The analysis of Table 1 shows that the features that verify $P < 0.05$ (and $F > F_c$) are: PitchSDev, PitchMax, Jitter local absolute, Shimmer local, Shimmer local in dB, Shimmer apq3 and Shimmer apq11. Of these, the most relevant features are Shimmer local, Shimmer local in dB

and Shimmer apq11, due to their higher values in the ANOVA test statistic, indicating a very significant difference between the populations means'. The Shimmer local is the average absolute difference between the amplitudes of consecutive periods, divided by the average amplitude [12], as shown in the equation below:

$$Shim_{dB} = \frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^{N-1} \left| 20 \times \log\left(\frac{A_{i+1}}{A_i}\right) \right| \quad (1)$$

The Shimmer apq11 is the 11-point amplitude perturbation quotient, the average absolute difference between the amplitude of a period and the average of the amplitudes of it and its ten closest neighbours, divided by the average amplitude [12], as below:

$$Shim_{apq11} = \frac{\frac{1}{N-1} \sum_{i=5}^{N-5} \left| A_i - \left(\frac{1}{11} \sum_{n=i-5}^{i+5} A_n \right) \right|}{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N A_i} \times 100 \quad (2)$$

The remaining features, PitchSDev, PitchMax, Jitter local absolute and Shimmer apq3, do not present such evident values.

Features	F (p-value)	Features	F (p-value)
PitchMed	2.9297 (0.0897)	Shimmer local	20.2207 (1.69E-05)
PitchSDev	9.5780 (0.0025)	Shimmer local in dB	29.4934 (3.30E-07)
PitchMin	1.3144 (0.2540)	Shimmer apq3	5.2617 (0.0237)
PitchMax	5.6926 (0.0187)	Shimmer apq5	2.1855 (0.1421)
Jitter local	3.8279 (0.0529)	Shimmer apq11	21.9284 (8.00E-06)
Jitter local absolute	5.5804 (0.0199)	Shimmer ddp	1.6123 (0.2068)
Jitter rap	2.1696 (0.1436)	Hnr mean autocorr.	0.0203 (0.8869)
Jitter ppq5	0.6394 (0.4256)	Nhr mean	0.0483 (0.8265)
Jitter ddp	2.1758 (0.1430)	Hnr mean	0.2175 (0.6418)

Table 1. ANOVA test statistics for each feature ($F_c=3.9258$).

After the identification of these relevant features, considering that the hypothesis formulated above was that the mean values of the features of the PH were different from the means of the PK, the means of each feature were analyzed (Table 2).

Features / Groups	Mean	Variance
Shimmer local_PH	0.156087	0.000525
Shimmer local_PK	0.126316	0.001974
Shimmer apq11_PH	0.183586	0.003280
Shimmer apq11_PK	0.139381	0.001799

Table 2. Characterization of the populations according to the average of the features Shimmer local and Shimmer apq11.

While analyzing the values of Shimmer local and Shimmer apq11 from each population (PH and PK), it was verified that the hypothesis formulated is verified and

in addition: a) Mean PH \neq Mean PK and b) Mean PH > Mean PK.

From these evidences, the following selection criterion was formulated: any individual with relevant features (Shimmer local and Shimmer apq11) with numerical values lower than those observed in a healthy individual could present PD.

To proceed with the validation and visual confirmation of this criterion, several samples of both populations were chosen randomly. Within these samples, only the relevant features were considered: Shimmer local and Shimmer apq11. Subsequently, for each healthy individual, a comparison was made of the value of each of their relevant features, with the value of each relevant feature of all individuals with Parkinson's.

Analyzing the results, it was observed that the criterion was verified and validated, except for sample number sixty (individual with PD), only for feature Shimmer local. Considering that the acquisition of a signal is influenced by several factors, for example, noise, it is thought that this sample could represent an outlier.

Continuing a deeper analysis of the results, a graph (Figure 2) was obtained with the data for Shimmer local and Shimmer apq11 in two groups by calculating the 95% confidence intervals. For each feature, the values obtained in PH and PK were overlapped, and lower and upper numerical limits (threshold values) that represent the possibility of being or not being diagnosed can be observed.

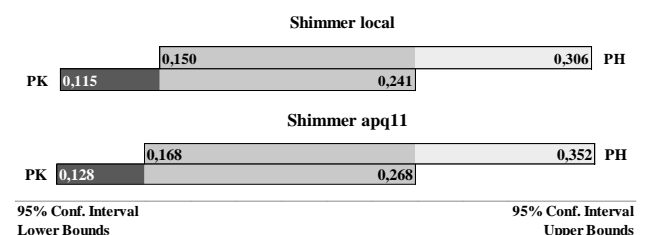


Figure 2. Representation of threshold values for possible identification of PD.

Evaluating the graph, it is predicted that from Shimmer local less than 0.150 the individual could present the disease, just as in the case of presenting a value of Shimmer apq11 lower than 0.168. On the other hand, in the situation where values higher than 0.241 and 0.268, for Shimmer local and Shimmer apq11, respectively, it may be admitted that a favorable diagnosis is being made without the presence of the disease.

With this approach we cannot evaluate the probability and respective percentage of Parkinson's positive check. The analysis of the confidence intervals only indicates that the may or may not have the disease, when the values obtained fall within the lower or upper bands, respectively. For example, for Shimmer local, it can be said that in 95% of the samples of a healthy population that can be collected in an analogous way, that is, under the same conditions in which the audio was recorded and with the use of same software, there would be a value above 0.150. If there are values that fit the grey zone

(intermediate zone), that is, for Shimmer local values between 0.150 and 0.241 and, Shimmer apq11 between 0.168 and 0.268, other features or conditions of the patient should be considered for a better diagnosis.

In [12], threshold values are presented for pathology with reference to values obtained by the Multi-Dimensional Voice Program (MDVP) software. Thresholds values for Shimmer local and apq11 are identified as 0.038 and 0.031, respectively [12]. However, it is not possible to compare with the values that are obtained by Praat, since each software executes its method, thus being able to have a divergence in the values, but always confirms the excellence character of the general feature Shimmer to determine several pathologies inherent to speech [16]. According to [16], in tests performed with male and female volunteers, both computer programs identified significant differences in the values obtained in the Jitter and Shimmer features. Thus, for an efficient diagnosis, the threshold values for pathology should be considered in a different way through the respective software.

4. Conclusions

In vocal acoustic analysis, interesting results were obtained regarding some relevant features, Shimmer local and Shimmer apq11, accessed through the Praat software and from the audio signal of the vocal tract, which can be considered as important factors in the detection of Parkinson's. These present significant differences when compared and analyzed in healthy individuals and in individuals with Parkinson's disease. These results lead us to consider and conclude that: 1) Shimmer local and Shimmer apq11 are the most prominent features in the detection of individuals with Parkinson's; 2) Individuals with Parkinson's presented numerical values for these features lower than the values obtained in healthy individuals; and 3) Analysis of signals of the vocal tract and detection of these discrepancies may contribute to the early detection of this pathology.

Therefore, all individuals with these features considered relevant for this evaluation, with Shimmer local and apq11 values lower than 0.150 and 0.168, respectively, could present the disease.

With the development of this method, it is expected to obtain early diagnosis, avoiding the use of expensive and invasive tests, so that physicians can prescribe the drugs available in advance and still at an early stage of the disease, exponentially retarding the effects inherent to this condition.

As future works, the voice parameters can be used in logistic regression models to find the probability of occurrence of Parkinson disease in a patient. Another possible approach would be to use multivariate discriminant analysis to combine the several parameters and find the border of the region in which the disease is to be diagnosed. These methods could be implemented in an algorithm that makes a pathological evaluation and, in the positive case, determines its stage and its probability in relation to the disease.

Unlike other machine learning systems, where the decision model appears as a black box, our approach allows to have a real insight of the data and to identify what acoustic features contribute to specify objective criteria towards the diagnose of Parkinson.

Acknowledgments

This work is supported by FCT funds, project UID/EQU/04730/2013.

References

- [1] Crankshaw CL. Neurodegenerative Diseases: Alzheimer's Disease, Huntington's Disease, Parkinson's Disease. *Biofiles, Sigma-Aldrich*, vol.7, n.2, 2012, pp.3-20.
- [2] Dorsey ER et al. Projected number of people with Parkinson disease in the most populous nations, 2005 through 2030. *Neurology*, vol.68, 2007, pp.384-386.
- [3] Website of the EPDA, European Parkinson's Disease Association. <http://www.epda.eu.com/en/> (March 2017).
- [4] Proença J, Veiga A, Candeias S, Lemos J, Januário C, and Perdigão F. Characterizing Parkinson's Disease Speech by Acoustic and Phonetic Features. *Springer International Publishing Switzerland*, 2014, pp. 24-35.
- [5] Ferreira FV, Cielo CA, Trevisan ME. Vocal acoustic measures in Parkinson disease: case study. *J CEFAC*, 2009.
- [6] Dias AE, Limongi JC. Treatment of vocal symptoms in Parkinson's disease: The Lee Silverman method. *Arch Neuro-Psychiatry*, vol.61, n.1, 2003, pp.61-66.
- [7] Azevedo LL, Cardoso F, Reis C. Acoustic analysis of prosody in females with Parkinson's disease: comparison with normal controls. *Arch Neuro-Psychiatry*, vol.61, n.4, 2003, pp.999-1003 (ISSN: 1678-4227).
- [8] Zarzur AP, Duarte IS, Gonçalves GN, Martins MA. Laryngeal electromyography and acoustic voice analysis in Parkinson's disease. *Brazilian J. Otorhinolaryngology*, vol.76, n.1, 2010.
- [9] Pereira JC et al. Residual signal auto-correlation to evaluate speech in Parkinson's disease patients. *Arch Neuro-Psychiatry*, 4-64, 2006, pp.912-915 (ISSN: 1678-4227).
- [10] Benba A, Jilbab A, Hammouch A. Voice analysis for detecting patients with Parkinson's disease using hybridization of the best acoustic features. *Int. J. Electronic Eng and Informatics*, vol.8, n.1, 2016, pp.108-116.
- [11] Website of the Project i-Prognosis. <http://www.i-prognosis.eu> (Consulted: March 2017).
- [12] Boersma P, Weenink D. Praat: doing phonetics by computer (Computer program). Version 6.0.25, retrieved 1 March 2017 from <http://www.praat.org/>.
- [13] Steffen N, Moschetti MB. 248 Children's Jitter and Shimmer Acoustic Parameters. *Brazilian J. of Otorhinolaryngology*, vol.63, n.4, 1997, pp.329-334.
- [14] Teixeira JP, Ferreira DB, Carneiro SM. Vocal acoustic analysis - determination of Jitter and Shimmer for diagnosis of speech pathologies. IPB, ESTG, Bragança. *Luso-Mozambican Engineering Congress*, 2011.
- [15] Wackerly D, Mendenhall W, Scheaffer R. *Mathematical Statistics with Applications*. 7th Ed., Duxbury, 2008.
- [16] Lovato A et al. Multi-Dimensional Voice Program (MDVP) vs Praat for Assessing Euphonic Subjects: A Preliminary Study on the Gender-discriminating Power of Acoustic Analysis Software. *J. Voice*, vol.30, n.6, 2016.

Human Actigraphy's Analysis Through an Inertial Sensor

J. Guerra¹, L. Coelho^{1,2}, D. Dias³, J.P.S. Cunha^{3,4}

¹ ISEP - Instituto Superior de Engenharia do Porto, P.PORTO - Politécnico do Porto, Porto, Portugal, {1160295, lfc}@isep.ipp.pt

² CIETI – Instituto Politécnico do Porto, Porto, Portugal,

³ INESC TEC - Instituto de Engenharia de Sistemas e Computadores – Tecnologia e Ciência, Porto, Portugal, {duarte.f.dias, jpcunha}@inesctec.pt

⁴ FEUP – Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto, Portugal,

Abstract

The evolution of wearable technology has provided an expansion in physiological monitoring allowing a greater comfort and proximity to the user in the medical field, personal monitorization and sports performance. Human actigraphy is a non-invasive method of monitoring various activities. This project presents the development of an automatic system based on human action analysis to recognize a set of predefined activities.

The data acquisition was done by two wearable devices which combine wearable technology and biomedical engineering: VitalJacket[®], a certified medical device, and VitalSticker, which consists of a new prototype. The sustainable development in the MATLAB language is based on the signal of a triaxial accelerometer. The main activities considered for recognition are divided in four classes: lying down, standing/sitting, walking and running. Two sessions were implemented: a training session, with different isolated instances within the motion classes mentioned, and a test session for testing the various classes of motion occurring in sequence in the same signal.

For the signals' analysis, a 5 seconds windowing analysis was implemented and considered eight independent features in the time domain. This allows a discrimination of the most relevant accelerometer's axis (x, y or z) for the distinction between the various classes and the feature that presents the greatest separability between activities. The obtained results consist of the recognition performed by the algorithm for the two devices. Presenting an accuracy of 95% for VitalSticker and 74% for VitalJacket[®], using a single characteristic and considering a single axis signal of a single triaxial accelerometer.

1. Motivation

Wearable devices allow to monitor physiological indicators, obtained by the Electrocardiogram (ECG), Electromyogram (EMG) or blood pressure measurement, among others, in a comfortable, non-invasive way while the users perform their daily activities. Joining in actigraphy provides the possibility of obtaining additional information and conducting long-term exams without causing any kind of inconvenience to the patient. Despite the presence of accelerometers in several devices or composite sensors, this project was intended to contribute to the implementation of human actigraphy analysis in specific wearable devices that were already available for development: the VitalJacket[®] and the VitalSticker.

The evaluation of human body movements can be successfully used in medical rehabilitation or posture evaluation, among other applications. By providing an

analysis of the human activity and rest cycles, this project aims to be a support system for the information gathering process of a health-care professional in a real environment (non-hospital), rehabilitation or individual follow-ups in physiotherapy treatments.

2. Introduction

Actigraphy is a non-invasive method that, by monitoring movement, allows to analyse activities such as rest cycles or estimate the type of activity that was performed by a human being in his daily life. This information may be a complement to other exams such, as vital signs analysis, for building enhanced clinical frameworks and decision support system for healthcare [1]. Medicine evolution tends to follow technological evolutions, emphasizing the measurement instruments that allow to monitor the health status of the patient, helping the health professionals' decisions [2,3]. A simple form of physiological monitoring consists in using inertial sensors, since those will not be affected by surroundings, that are usually combinations of sensors such as accelerometers, gyroscopes and even a magnetometers [4]. These sensors are characterized by their low energy consumption, low cost and its size, which has been successively reduced. A triaxial accelerometer is a sensor that returns an estimate of the actual acceleration evaluated along the x, y and z axes, as a variation of motion, from which velocity and displacement can be estimated [5]. These sensors find applications in many areas, from the medical field to a sports context. Specifically concerning wearable technology, we can find inertial sensors on devices such as the VitalPatch [6] or the BioHarness [7], that allow the registration of various vital signals, or even the VitalJacket[®] [8], a certified medical device that is to be evolved into the VitalSticker.

As related work in recent years, it is possible to define many approaches for human daily activity recognition using inertial sensors [4,5]. Such studies to determine action and movement using neural networks to classify the basic activities [9], rule-based activity classification system for tracking the flexion angles of the human body [10] or study gait-related movement patterns [3].

This project aims to develop an automatic system for the analysis of human actigraphy that can recognize the activities performed in an examination acquired by a

triaxial accelerometer. The recognition system focus consists in four classes: lying down, standing/sitting, walking and running. For system development, a training session and a test session were implemented. The obtained results are presented in a visual graph returning and distinguishing the activities performed in a certain time interval. Tests were made with two wearable devices: VitalJacket® and the VitalSticker, that allowed to compare its analysis of the actigraphy.

3. Methods and Results

During system training an adapted supervised learning approach has been used where the training data is known (activities and time instants previously defined in a fixed procedure) which allowed to perform its labelling. Therefore, focusing on the signal analysis, it is done a best feature study through class separability, using a single triaxial accelerometer. For the algorithm development a two parts pipeline was followed, as depicted in figure 1. The first part, training session, which allows the extraction of the distinction parameters to differentiate each activity and the second part, test session, to examine the signal and to determinate the activity occurring in each time interval. The algorithm can work in near real time conditions if we consider a 5 seconds delay. During the training session an extraction of eight features in the time domain is performed for the definition of the distinction parameters. These are picked by a selection method of the best feature for class separability on the most relevant axis of the accelerometer. This axis is determined by being the most affected by the movements in study, which means it is the vertical accelerometer axis when the person is standing up.

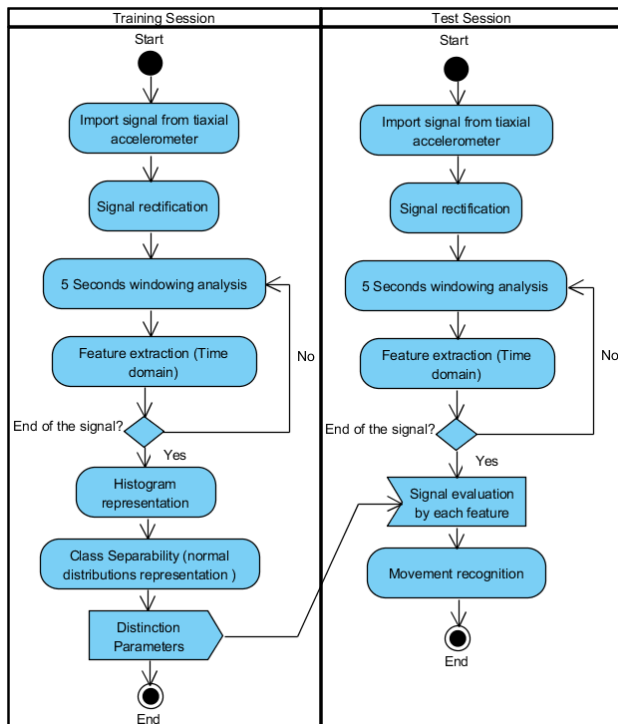


Figure 1. Flowchart of the human actigraphy algorithm

3.1. Database acquisition and organization

The acquisition of data was performed simultaneously using two different devices, both using a 10Hz sampling

frequency: the VitalJacket® where the accelerometer is placed on the t-shirt's pocket on the hip area and the VitalSticker, placed directly to the skin on the chest area. The signals consisted in the acceleration value on each axis (x, y, z) along with the respective time stamp. The effect of gravity is important and so it is not cancelled.

As a support to the development and subsequent testing, the recording sessions followed a pre-defined procedure, common to all subjects, divided in two parts: the first one for training, with the different isolated activities within the motion classes and the second one for testing, with several classes of movement occurring in sequence.

3.2. Signal processing and analysis

Before the feature extraction process, the signals are initially rectified for a simpler analysis of their data considering the features in study. Due to the signals' behaviour, their oscillation around the base value (0), the extracted characteristics would be compromised to non-conclusive extraction values for comparisons.

After importing and rectifying the signal, it is necessary to analyse the entire signal for the activities sequence delimitation. This analysis is performed by the features extraction. Thus, the signal is analysed by 5 second sliding windows, for an evaluation of small intervals suitable for the various selected features extraction and the time intervals spent in each activity performance. This duration gave the best results on a 3s to 7s evaluation range.

3.3. Signal's feature extraction and study

The feature selection for the recognition of human activity, as the acquisition sequence study, is the most important step for a recognition algorithm. This study focuses on possible features for time domain analysis, where the testing signal is evaluated for the window size decided. Based on a bibliographic research, these 8 features were selected for testing, to conclude the best one for an accurate distinction between classes/activities. The features extracted were: Average, Median, Standard Deviation, Maximum, Minimum, Range, Root Mean Square and Energy.

3.4. Class Separability and Distinction Parameters

The feature extraction allows an organization of eight new sets of signals, a set consisting of the three signals corresponding to x, y, z for each feature. Each set consists of the values obtained by extracting each feature of the rectified signal from the selected window size. Thus, it was imperative to develop a method of comparison between the three main classes, corresponding to states of rest (lying down or sitting/standing), walking and running.

Understanding that each set of activities: rest, walking, running, can be considered a class, this step consists of a separation between classes. Signal representations by histograms were created relative to each axis for each feature. This allows an analysis of the distribution of the values obtained of each feature along the signal. Thereby, it would be expected to observe three concentrations regions in which it was possible to visually distinguish each activity class.

The study proceeds only with data from the most relevant accelerometer axis of each device, X (VitalJacket®) and Y (VitalSticker). Each represents the most affected axis by the movements oscillation (vertical axis when the person is standing) and that would provide an ideal model approximation of separability by normal distributions in the order: Rest-Walk-Run, as can be observed in Figure 2, where each class can be fully distinguish from the other separately. Moreover, the classes' representations that would not present that order of classes were discarded.

Through Gaussian analysis and confidence intervals, Figure 3, the separability degrees between classes were calculated for each feature. The one with bigger distance between the average points of the 3 distributions was selected, since for this case it represented a sufficient separation between classes. The intersections between each pair of histograms represent the activity recognition boundaries between classes. These distinction parameters are saved and used in the test session in which they represent the limits for decision and distinction between the recognized activity.

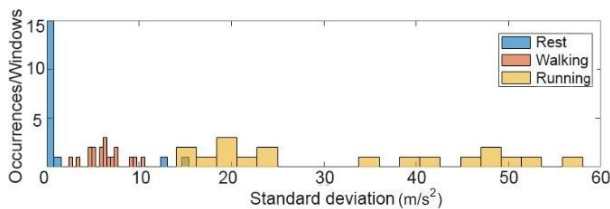


Figure 2. Class representation through histograms

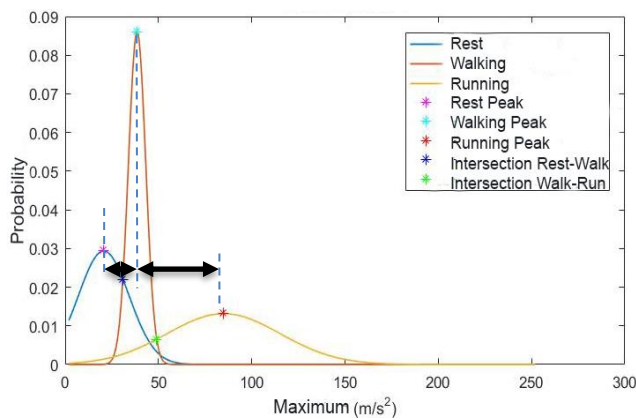


Figure 3. Class separability and distinction parameters (asterisks)

3.5. Test Session

For the actigraphy analysis it is essential that, after the training session, the distinction parameters are imported for the test session. The signals imported into the test session consist of a sequence of activities. These signals are also processed and analysed through feature extraction. A comparison has been made between the values extracted in each feature and the distinction parameters related to the corresponding feature. Depending on the assessed value and threshold, it is determined which class it belongs to. Concerning the Rest class, there was still the possibility to distinguish between two sub-classes: Lying down or Standing/Sitting, evaluated by the rotation of the accelerometer axes of the acquisition device.

As results for the recognition visualization, a stipulated value was assigned for each activity, to be represented in a new graph. In this case, each class corresponds to a certain level between 0 to 3, Table 1. This configuration allows an intuitive visualization for a simple and direct evaluation/recognition.

0	1	2	3
Lying down	Standing/ Sitting	Walking	Running

Table 1. Representative values for each activity

3.6. Wearable devices comparison

Since the acquisition process was done simultaneously in the two devices, previously mentioned, it was possible to organize a database for the subject for each device and therefore implement the algorithm for both. The main differences to be pointed out are essentially, the device position relative to the body and how it is coupled to the user. As result for a certain sequence of activities it was traced the recognition level graph with the procedure of this examination, Figure 4. Thus, it is shown the comparison between the activity detected by each device and the activity truly performed.

For a final evaluation of the performance of the developed algorithm, two tables were elaborated, one respective to each acquisition device, for calculation of its accuracy. By adapting the Confusion Matrix to determine classifiers for a greater number of classes, Table 2, it is done an evaluation for each activity and device.

		VitalSticker recognition results				
		Lying down	Standing/ Sitting	Walking	Running	Accuracy
Gold standard	Lying down	3186	224	0	0	96%
	Standing/ Sitting	114	9123	112	1	
	Walking	55	3	3297	220	
	Running	2	53	0	770	
		VitalJacket recognition results				
		Lying down	Standing/ Sitting	Walking	Running	Accuracy
Gold standard	Lying down	1596	493	166	0	74%
	Standing/ Sitting	1535	7761	439	0	
	Walking	222	987	2640	276	
	Running	0	165	164	716	

Table 2. Four class Confusion Matrix of the recognition results

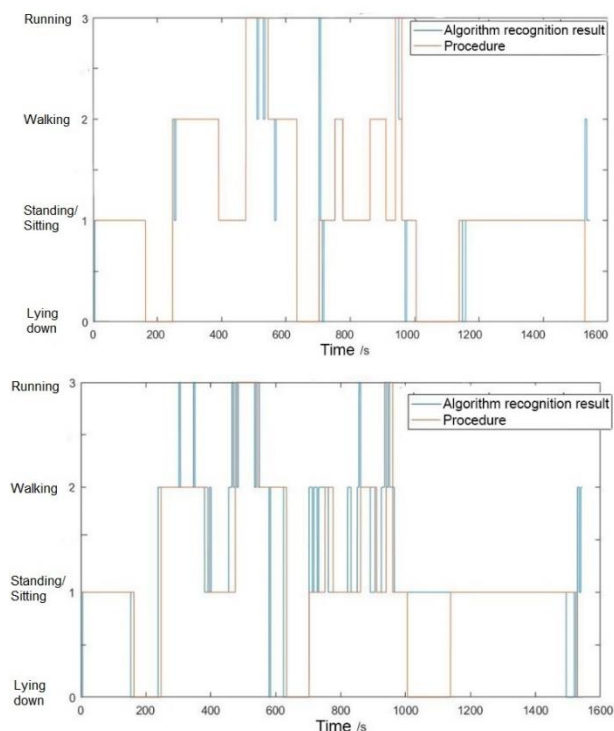


Figure 4. Procedure (red) and algorithm recognition result (blue) comparison: VitalSticker (up), VitalJacket (down)

4. Discussion and Conclusion

This approach to human actigraphy analysis consisted of an analysis of a triaxial accelerometer, in the time domain where all features were tested in the same way. This method allowed a definition of an optimal feature for motion recognition based on the results. Although the maximum feature permitted a better approximation of the activities recognition system to the activity performed when compared to a known sequence, the knowledge of a relevant axis in the accelerometer for each device remains an important step in the process.

However, some differences in the results obtained for each device are observable, since the VitalSticker shows a 95% accuracy while the VitalJacket® shows 76%, analysing the best axis for the maximum values. Possibly when using VitalJacket®, the lower accuracy is due to the fact that the accelerometer is located inside a loose pocket, which may be subject to a greater oscillation of the movement. On the other hand, VitalSticker is placed directly on the skin, which can provide greater stability and monitoring of the movement of the human body.

Human monitoring is an area that is constantly evolving and is becoming increasingly important both at the medical and sporting levels. Regarding the development of this method for movement recognition, it was possible to obtain an automatic system. This system allows the recognition of movements performed in a continuous examination by determining their time intervals, through the signal of a single triaxial accelerometer in a wearable device.

After the selection of common daily activities, the recognition focused on the following situations: lying down, sitting/standing, walking or running and provided a comparison of the same signal in two devices, placed in

different parts of the body. Through the acquired data, the system could determine distinction parameters between the various activities through the vertical axis analysis in the base configuration of the devices (X axis for VitalJacket® and Y axis for VitalSticker). With a 96% and 74% accuracy, this actigraphy analysis is supported from the determination of one feature from a single axis in a single triaxial accelerometer.

Since the system only requires data from a triaxial accelerometer, instead of several sensors used simultaneously, it allows a greater mobility and comfort to the user. The main novelty of the proposed algorithm is that it consists in a very simple implementation while providing highly effective results. Using the accelerometer already incorporated in the two devices presented (VitalJacket® and VitalSticker) and a time domain implementation promotes advantages like not adding more costs or changes to the hardware used, but rather an added value, since it contributes with more information under the same examination conditions. However, a study and a system with these characteristics clearly fits into the current perspective of wearable technologies, this project presents a first approach to motion recognition, with possible evolutions, such as individual personalization or improving the classification method by combining the information from more than one of the computed temporal parameters.

Acknowledgments

This work is supported by FCT funds, project UID/EQU/04730/2013.

References

- [1] Saraiva PT. Vitaljacket – Actigrafia E Localização. MsC thesis, Univ. Aveiro, 2009
- [2] Chong L. Wearable Computing: Accelerometer-Based Human Activity Classification Using Decision Tree. All Graduate Theses and Dissertations, 2017
- [3] Kavanagh JJ, Menz HB. Review of Accelerometry: A technique for quantifying movement patterns during walking. *Gait Posture*, vol. 28, no. 1, pp.1–15. 2008
- [4] Yang CC, Hsu YL. Review of Accelerometry-based wearable motion detectors for physical activity monitoring. *Sensors*, vol. 10, no. 8, pp. 7772–7788. 2010
- [5] Ravi N, Dandekar N, Mysore P, Littman ML. Activity Recognition from Accelerometer Data. *Nat. Conf. Artificial Intelligence*, Piscataway, vol. 20, no. 3, p. 1541, 2005.
- [6] Web page of VitalPatch. <http://www.medibiosense.com/products/vitalpatch/>. (Consulted: May 2017).
- [7] Zephyr™ Technology, “BioHarness 3.0 User Manual”. (Consulted: May 2017).
- [8] Web page of VitalJacket. http://www.vitaljacket.com/?page_id=156. (May 2017).
- [9] Zhu C, Sheng W. Recognizing human daily activity using a single inertial sensor. *8th World Congr. Intell. Control Autom.*, no. August 2010, pp 282–287, 2010.
- [10] Yeoh S, Pek I, Yong Y, Chen X, Waluyo A. Ambulatory monitoring of human posture and walking speed using wearable accelerometer sensors. *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.*, vol. 2008, pp. 5184–5187, 2008.

Evaluación de un Articulador Virtual para la identificación de interferencias en movimientos mandibulares excéntricos.

Jairo L. Ramón Valencia¹, Martha C. Tamayo-Muñoz², Cecilia Ruiz-Rubiano³, Livanessa Ramos⁴, Rafael Ayala⁴, Eneko Solaberrieta⁵

¹ Universidad El Bosque, Facultad de Ingeniería, Programa de Bioingeniería, Bogotá, Colombia, leninramon@unbosque.edu.co

² Unidad de Investigaciones, Programa de Prosthodontia, Facultad de Odontología, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia.

³ Programa de Prosthodontia, Facultad de Odontología, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia.

⁴ Residente, Programa de Prosthodontia, Facultad de Odontología, Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia.

⁵ Universidad País Vasco (UPV/EHU), Escuela de Ingeniería de Bilbao, Departamento de Expresión Gráfica y Proyectos de Ingeniería, Bilbao, España.

Resumen

El objetivo del estudio fue determinar la concordancia del articulador virtual Whip-Mix Denar Mark 330 soportado por 3 Shape Dental System™, para la identificación de interferencias oclusales en los movimientos excéntricos. Se utilizó una muestra probabilística de 50 pacientes adultos, mayores de 20 años, Clase-Angle-I o II, con soporte dental anterior y posterior, sin patologías articulares. Como método estándar se utilizó el análisis oclusal (presencia y ubicación de interferencias oclusales durante los diferentes movimientos mandibulares) realizado por dos examinadores cualificados -tanto en los pacientes como en los montajes en el articulador semiajustable Whip Mix serie 2240. Para determinar la exactitud se compararon las mediciones realizadas por el método estándar y por el articulador virtual sobre 50 montajes de los 50 pacientes, y para evaluar la precisión se compararon tres mediciones realizadas a intervalos de 7 días por el articulador virtual sobre 35 montajes codificados a ciego para cada medición. En el análisis estadístico se calculó el coeficiente correlación intraclase. La exactitud del articulador virtual reportó fuerza de concordancia moderada para la localización de interferencias en lateralidad izquierda/balanza y protrusión derecha. Y la fuerza de concordancia regular en lateralidad derecha/trabajo, lateralidad izquierda trabajo y balanza, y protrusión izquierda. Se obtuvo una precisión muy buena en todos los casos. Concluyendo que el articulador virtual evaluado no es una prueba confiable para identificar interferencias oclusales en movimientos excéntricos.

Introducción

El análisis oclusal es un examen del sistema masticatorio el cual: evalúa la estabilidad en el cierre o durante los movimientos cinéticos mandibulares. Además evalúa la variabilidad de los movimientos mandibulares dentro de los márgenes de tolerancia biológica, es decir, sirve como base para seleccionar un plan de tratamiento óptimo en prosthodontia y ortodoncia [1]. Para llevar a cabo este análisis actualmente se dispone de un articulador semiajustable que es un instrumento mecánico que representa las articulaciones temporo-mandibular y los maxilares, permitiendo simular en movimientos mandibulares de manera tridimensional [1].

Los articuladores semiajustables por su tamaño y diseño presentan algunas ventajas que le permiten una reproducción aproximada de la posición de los maxilares y de algunos de sus movimientos cuando son lineales [2], sin embargo los cambios dimensionales que sufren los materiales de impresión y el yeso, la estabilidad del articulador y la deformación mandibular en máxima apertura afectan la confiabilidad del articulador en la reproducción de la dinámica mandibular en la identificación de interferencias interoclusales [3-8].

Hoy en día existen articuladores virtuales diseñados para el análisis exhaustivo de la oclusión estática y dinámica, con el fin de reducir significativamente las limitaciones del articulador mecánico y evitar sus posibles errores [3-8]. El diseño de estos articuladores se logra utilizando el sistema CAD (Computer Aided Design) y herramientas de ingeniería inversa [7, 9-10].

Dentro de las principales ventajas de los articuladores virtuales se encuentran: mejoran la comunicación del odontólogo con el técnico dental, permite el análisis estático y dinámico de oclusión, permite evaluar de manera más acertada la función del sistema estomatognático, y permite el diseño de prótesis utilizando la tecnología CAD/CAM (Computer-Aided Design / Computer-Aided Manufacturing) y es muy efectivo en la educación del paciente [3-11].

Uno de los sistemas que presentan el programa de articulador virtual es el 3 Shape's Dynamic Virtual Articulator™, este sistema vincula el procedimiento digital con su equivalente en físico utilizando ingeniería inversa y permite a los técnicos y a los odontólogos utilizar - virtualmente- un articulador semiajustable específico como el Whip Mix Denar® Mark 330. La validez de este sistema para la identificación de interferencias oclusales, no ha sido evaluado por lo que el propósito de este estudio fue Evaluar la concordancia, en términos de precisión y exactitud, del Articulador Virtual AV (Whip Mix Denar® Mark 330 soportado por 3 Shape Dental System™) para la identificación de interferencias oclusales en movimientos mandibulares excéntricos.

Materiales y métodos

Se llevó a cabo un estudio Evaluación de pruebas diagnósticas con análisis de concordancia, en el que se utilizó una muestra probabilística de 50 modelos de estudio, de pacientes adultos, para evaluar la exactitud y de 35 modelos de estudio para evaluar la precisión (95% de confiabilidad y 80% de poder). Se incluyeron pacientes mayores de 20 años con clase I y II de angle, con soporte oclusal posterior y anterior, asintomáticos a nivel dental, articular y muscular. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado aprobado por el Comité de Ética Institucional (26 de mayo de 2014).

En este estudio se utilizó como método de referencia el análisis oclusal (presencia de interferencias oclusales en movimientos excéntricos) realizado de manera combinada por 2 examinadores cualificados calibrados (ICC 0.90) sobre los pacientes y sobre los montajes de los modelos de estudio en el articulador Whip-Mix 2240®.

Con el fin de evaluar la exactitud, se compararon las medidas obtenidas del análisis oclusal realizado con el articulador virtual (Whip Mix Denar® Mark 330 soportado por 3 Shape Dental System™), con las obtenidas por el método de referencia y la precisión se calculó al comparar tres mediciones realizadas con el articulador virtual sobre 35 montajes codificados a ciego para cada medición y realizadas a intervalos de una semana (Figura 1).

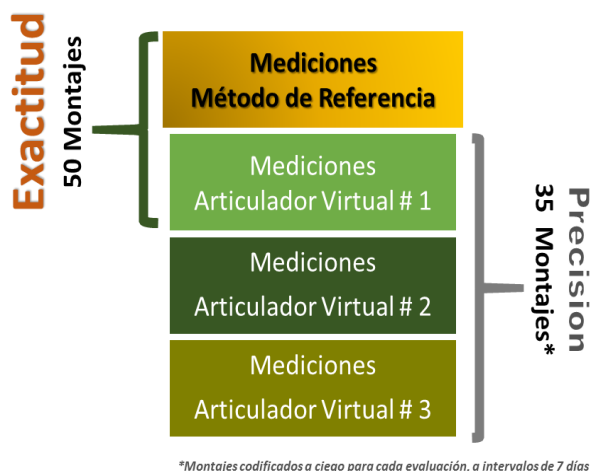


Figura 1. Diseño del estudio.

Para realizar el montaje en el AV, se utilizaron los mismos modelos y registros de mordida usados para el montaje en el articulador semiajustable que se escanearon con el escáner D700 - 3Shape, los datos de ángulo de Bennett e Inclinación condílea derecha e izquierda y rangos de movimientos laterales y protusivos borde a borde obtenidos también del montaje individual de los modelos en el AC, se transcribieron al software 3 Shape Dental System™ con el fin de ajustar las guías condilares y delimitar los rangos de movimientos excéntricos en el AV.

Las interferencias oclusales fueron identificadas para cada paciente por dos examinadores cualificados y fueron registradas en los lados de balanza y trabajo durante los movimientos de lateralidad derecha y externa. Y para los

movimientos protusivos se registraron tanto al lado derecho como izquierdo (Figura 2).

Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de coeficiente de correlación intraclase (ICC) con intervalos de confianza de 95% para evaluar tanto la exactitud como la precisión y el coeficiente de variación solo para la precisión. Todos los resultados se interpretaron siguiendo los criterios de Fleiss [12].

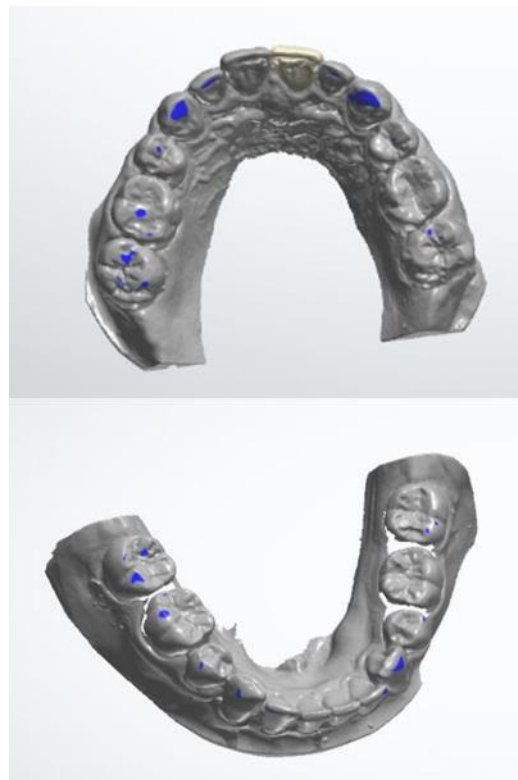


Figura 2. Identificación de interferencias oclusales por parte del AV(Whip Mix Denar® Mark 330 soportado por 3 Shape Dental System™),

Resultados

Al evaluar la exactitud se observó que el AV presenta una fuerza de concordancia moderada para la localización de interferencias con respecto al ME en: lateralidad izquierda balanza (ICC=0,57) y protrusión derecha (ICC=0,51), y la fuerza de concordancia es **regular** en lateralidad derecha trabajo, lateralidad izquierda trabajo y balanza, y protrusión izquierda (ICC = 0.42-0.50) [12].

Se obtuvo una precisión muy buena (CCI =1) en todos los casos. Lo que significa que la fuerza de concordancia en cuanto a la precisión en la reproducibilidad de los resultados con el articulador virtual es muy buena.

Discusión

El articulador virtual Whip Mix Denar® Mark 330 soportado por 3 Shape Dental System™ obtuvo una concordancia regular en términos de exactitud.

Estos resultados pueden presentarse debido a dos factores. El primero es que a diferencia de otros estudios en los que usaron como método estándar un articulador convencional [11,13], en este estudio se utilizó como estándar de oro el análisis oclusal realizado por dos examinadores cualificados en los montajes en el articulador semiajustable Whip Mix serie 2240 y validado directamente en los pacientes. Estos dos rasgos elevan la confiabilidad de las mediciones tomadas por el método y lo ratifican como estándar de oro [14].

El segundo factor es que en este estudio no se utilizaron herramientas tales como arco facial electrónico o registro de mordidas digitales que permitieran omitir los procedimientos clínicos y de laboratorio convencionales tanto para el montaje de los modelos, como para la obtención de datos esenciales para el ajuste de las guías condilares (Angulo de Bennett e Inclinación condílea derecha e izquierda y rangos de movimientos laterales y protusivos borde a borde). En efecto varios estudios demuestran que la confiabilidad del análisis oclusal realizado por el articulador virtual aumenta cuando se usan registros digitales oclusales y de arco facial [13,15-16].

La precisión de los articuladores virtuales no ha sido evaluada en otros estudios y en este estudio demostró ser excelente. La exactitud y la precisión de las pruebas diagnósticas deben evaluarse de manera conjunta para garantizar la validez de las medidas: la exactitud demuestra que el instrumento o la prueba mide la realidad y la precisión demuestra que cada vez que la mide lo hace manera similar.

Conclusiones

A partir de los resultados del presente estudio y dentro de las limitaciones de los métodos empleados se puede concluir que:

La fuerza de concordancia en exactitud del articulador virtual Whip Mix Denar® Mark 330 soportado por 3 Shape Dental System™ fue moderada y no clínicamente buena para la localización de interferencias oclusales en movimientos excéntricos.

Aunque la fuerza de concordancia en precisión fue muy buena para la ubicación de las interferencias oclusales durante todos los movimientos mandibulares excéntricos funcionales, este hallazgo no es significativo a nivel clínico debido a que el articulador virtual no tiene la capacidad de identificar con exactitud las interferencias oclusales durante los movimientos mandibulares excéntricos funcionales.

Líneas Futuras

Realizar el mismo diseño de estudio utilizando un arco facial electrónico y dispositivo de registro oclusal digital para la transcripción directa de los datos desde los pacientes al articulador virtual.

Evaluar la capacidad de los otros articuladores semiajustables soportados por 3 Shape Dental System™ para la identificación de interferencias oclusales.

Agradecimientos

Los autores agradecen la financiación del estudio a la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad El Bosque (PCI: 2013-395) y la cooperación prestada por las Clínicas Odontológicas de la Universidad El Bosque.

Referencias

- [1] The Glossary of Prosthodontic Terms: Ninth Edition GPT-9. *Journal of Prosthetic Dentistry*, vol 117. Issue 5, 2017, pp e1 - e105 (ISSN 0022-3913).
- [2] Ash MM, Paradigmatic shifts in occlusion and temporomandibular disorders. *Journal of oral rehabilitation*, vol 28, 2001, pp 1-13 (ISSN 1365-2842).
- [3] Kordaß B, Gärtner C, A, Söhnel, Bisler A, Voß G, Bockholt U, Seipel S. The virtual articulator in dentistry: Concept and development. *Dental Clinics of North America*, vol 46, sup 3, 2002, pp 493-506 (ISSN 0011-8532).
- [4] Singh N, Dandekeri S, Shenoy K, Bhat V. Digital Articulators: A Promising Technology of the Future. *International Journal of Dental and Medical research*, vol 1, sup 2, 2014, pp 98-102 (ISSN 2349-6401).
- [5] Maestre-Ferrín L, Romero-Millán J, Peñarocha-Oltra D, Peñarocha-Diago M. Virtual articulator for the analysis of dental occlusion: An update. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, vol 17, sup 1, 2012, pp e160-e163 (ISSN 1698-4447).
- [6] Shadakshari S, Nandeeshwar DB, Saritha MK. Virtual articulators: a future oriented technology. *Asian Journal of Medical and Clinical Sciences*, vol 1, sup 2, 2012, pp 8-101 (ISSN 2278-6589).
- [7] Koralakunte PR, Aljanakh M. The Role of Virtual Articulator in Prosthetic and Restorative Dentistry. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, vol 8, sup 7, 2014: pp ZE25-ZE28 (ISSN 2249-782X).
- [8] Gugwad RS, Basawakumar M, Abhijeet K, Arvind M, Sudhindra M, Ramesh C. Review of Virtual articulators in prosthodontics. *International Journal of Dental Clinics*, vol 3, sup 4, 2011, pp 39-41 (ISSN 0975-8437).
- [9] Solaberrieta E, Minguez R, Barrenetxea L, Sierra E, Etxaniz O. Computer-aided dental prostheses construction using reverse engineering. *Comput Methods Biomech Biomed Engin*, vol 17, sup 12, 2014, pp 1335-46 (ISSN 1025-5842).
- [10] Solaberrieta E, Etxaniz O, Minguez R, Muniozguen J, Arias A. Design of a virtual articulator for the simulation and analysis of mandibular movements in dental CAD/CAM. *Proceedings of the 19th CIRP Design Conference Competitive Design*, Cranfield University, 30-31 March 2009, pp 323.
- [11] Delong R, Ko CC, Anderson GC, Hodges JS, Douglas WH. Comparing maximum intercuspal contacts of virtual dental patients and mounted dental casts. *Journal of Prosthetic Dentistry*. Vol 88, sup 6, 2002, pp 622-30 (ISSN10976841).
- [12] Fleiss JL. The design and analysis of clinical experiments. *Biometrical Journal*, vol 30, sup 3, 1986 (ISSN 1521-4036).
- [13] Solaberrieta E, Otegi JR, Goicoechea N, Brizuela A, Pradies G. Comparison of a conventional and virtual occlusal record. In *The Journal of Prosthetic Dentistry*, Vol 114, Issue 1, 2015, pp 92-97 (ISSN 0022-3913).

- [14] Matos R, Novaes TF, Braga MM, Siqueira WL, Duarte DA, Mendes FM. Clinical performance of two fluorescence-based methods in detecting occlusal caries lesions in primary teeth, *Caries Research*, vol 45, sup 3, 2011, pp 294-302 (ISSN 0008-6568).
- [15] Solaberrieta E, Mínguez R, Barrenetxea L, Otegi JR, Andrés Szentpétery, Comparison of the accuracy of a 3-dimensional virtual method and the conventional method for transferring the maxillary cast to a virtual articulator. In *The Journal of Prosthetic Dentistry*, vol 113, Issue 3, 2015, pp 191-197 (ISSN 0022-3913).
- [16] Solaberrieta E, Otegi JR, Mínguez R, Etxaniz O, Improved digital transfer of the maxillary cast to a virtual articulator, In *The Journal of Prosthetic Dentistry*, vol 112, Issue 4, 2014, pp 921-924 (ISSN 0022-3913).

Premio Jose María Ferrero

Jueves, 30 de Noviembre

Utilización de microhilos magnéticos para promover la muerte de células de osteosarcoma mediante hipertermia magnética *in vitro*

I. Arranz-Bárcena¹, J. Campisi², I. Martínez de Apellániz³, S. Lizarbe-Sancha⁴, O. Mitxelena-Iribarren¹, S. Arana¹, V. Zhukova^{5,6}, M. Mujika¹, A. Zhukov^{5,6,7}

¹ CEIT-IK4 y Tecnun (Universidad de Navarra), San Sebastián, España, {iarranz, omitxelena, sarana, mmujika}@ceit.es

² Departamento de Biología, Universidad de Regis, Denver (CO), Estados Unidos, jcampisi@regis.edu

³ Tecnun, Universidad de Navarra, San Sebastián, España, imartinezg1@alumni.tecnun.es

⁴ CEIT-IK4, San Sebastián, España, slizarbe@ceit.es

⁵ Dpto. Física de Materiales, UPV/EHU, San Sebastián, España, {arkadi.joukov, valentina.zhukova}@ehu.es

⁶ Dpto. de Física Aplicada, EUPDS, UPV/EHU, San Sebastián, España

⁷ IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, Bilbao, España

Resumen

Los tratamientos para el cáncer que se llevan a cabo actualmente tienen una serie de limitaciones que, unido a que se trata de técnicas invasivas, hace que se tienda a buscar nuevas alternativas. Una de ellas es la hipertermia dirigida, cuyo objetivo son las células cancerígenas. Se trata de una técnica relativamente nueva, por lo que aún no se ha estudiado en profundidad. En este trabajo, se han utilizado microhilos magnéticos amorfos recubiertos de vidrio para calentar células de osteosarcoma aplicando un campo magnético alterno. De acuerdo con los resultados obtenidos de los ensayos realizados "in vitro", se puede confirmar que la utilización de estos microhilos magnéticos reduce la proliferación de células cancerígenas dando lugar finalmente a la muerte celular. Además, esta técnica es un proceso mucho menos invasivo que los utilizados actualmente y que requiere exposiciones breves a campos magnéticos débiles. Por todo esto, la hipertermia dirigida se presenta como una alternativa efectiva para el tratamiento de osteosarcoma.

1. Introducción

De acuerdo con la OMS (Organización Mundial de la Salud), el cáncer es a día de hoy una de las principales causas de mortalidad, hecho que reflejan claramente los 8,2 millones de fallecidos en el año 2012 por esta enfermedad. [1] Además, se prevé que este número siga aumentando llegando a superar los 17 millones en el año 2030. [2]

Uno de los cánceres más comunes entre los niños en edades comprendidas entre 1 y 14 años es el osteosarcoma (OS). [3] Se trata de un neoplasma maligno agresivo que surge de células primitivas transformadas de origen mesenquimal y que muestran una diferenciación osteoblástica produciendo un osteoide maligno. El OS es el cáncer de huesos más frecuente que existe, con una incidencia de aproximadamente 2570 casos cada año en Estados Unidos, y que generalmente aparece en áreas en las que el hueso está creciendo rápidamente, como pueden ser el fémur, la tibia o el húmero. [4]

El tratamiento del cáncer depende tanto de la zona en la que se ha generado el tumor como del estado de desarrollo en el que se encuentre. A día de hoy, los tratamientos más extendidos son la quimioterapia, la radioterapia y la cirugía. Sin embargo, estos tratamientos producen importantes efectos secundarios debido a su falta de especificidad, ya que también atacan células sanas del organismo. [5] En el caso concreto del osteosarcoma, además, aún siguen siendo frecuentes las complicaciones, como pueden ser infecciones o recurrencias locales del tumor, las cuales pueden derivar en la necesidad de más cirugía o incluso amputación. Por todo esto, es necesario el desarrollo de nuevas técnicas para el tratamiento del cáncer en general y del osteosarcoma en particular, que limiten los efectos secundarios de los tratamientos actuales.

Una de ellas y la cual tiene un gran potencial es la hipertermia dirigida, que consiste en la hipertermia localizada que permita únicamente matar células cancerígenas. [6,7] Entre todos los tipos de hipertermias, la magnética es la que ofrece mejores perspectivas de futuro para el tratamiento localizado del cáncer. [8,9] El fenómeno físico que se esconde detrás de esta técnica, consiste en el calentamiento del área tumoral, en el que está alojado un objeto magnético, mediante la aplicación de campos magnéticos alternos. Este calentamiento hará que se aumente la oxigenación y la radio- y quimiosensibilidad de las células tumorales, dando lugar a una reducción del tumor. De esta manera, lo que se busca es elevar la temperatura de la región tumoral, manteniendo intacta la temperatura corporal del paciente. [8-10]

Este calentamiento de los materiales ferromagnéticos está relacionado con un ciclo de histéresis que representa el trabajo disipándose como energía térmica. Generalmente, la disipación de energía bajo campos magnéticos alternos se describe en términos de pérdidas magnéticas. Estas pérdidas magnéticas pueden ser representadas mediante el área del ciclo de histéresis del material.

Recientemente, se han estudiado las propiedades térmicas de microhilos amorfos ricos en Fe con recubrimiento de vidrio como potencial aplicación para hipertermia magnética. Estos hilos pueden llegar a medir algunos kilómetros de largo con un diámetro que varía entre 1 y 50 μm . [11] Este tipo de microhilos metálicos tienen unas excelentes propiedades mecánicas [12] y magnéticas. [13] Además, el recubrimiento de vidrio hace que se mejoren sus propiedades mecánicas [14] y que presenten nuevas funcionalidades aptas para aplicaciones médicas.

Por todo esto, en el presente trabajo se muestran los resultados obtenidos acerca de la influencia que pueden tener los microhilos metálicos recubiertos de vidrio, calentados magnéticamente, en la viabilidad de células de osteosarcoma.

2. Material y métodos

2.1. Microhilos magnéticos amorfos

Para este estudio se han utilizado microhilos magnéticos, compuestos de un núcleo metálico amorfo de $\text{Fe}_{77}\text{B}_{10}\text{Si}_{10}\text{C}_3$ recubiertos de una fina capa de vidrio (Figura 1) (Tamag Ibérica S.L.). Esta capa de vidrio sirve de aislamiento para que el núcleo metálico no se vea afectado por las condiciones del entorno. El diámetro del núcleo es de 23 μm y el diámetro total de 32 μm .

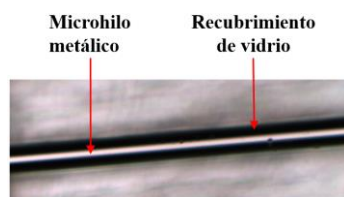


Figura 1. Imagen de microscopía óptica de un microhilo magnético recubierto de vidrio.

2.2. Cultivo celular y reactivos

En este caso se ha utilizado la línea celular de osteosarcoma U-2 OS (ECACC 92022711, ATCC HTB-96). Las células se han cultivado a 37°C con 5% de CO_2 . Como medio se ha empleado RPMI 1640 (Life Technologies) con 10% de suero fetal bovino (Foetal Bovine Serum, FBS) (Life Technologies) y 1% de antibiótico (Life Technologies). [37]

2.3. Banco de ensayos y procedimiento experimental

El banco de ensayos utilizado para llevar a cabo los ensayos de hipertermia magnética está compuesto por tres bloques principales: 1º un generador de campos magnéticos alternos basado en un electroimán alimentado por una fuente alterna (Figura 2.a), 2º un monitor de temperatura que incluye un termopar y un multímetro (Figura 2.b) y 3º un incubador de células en el que se integran los microhilos (Figura 2.c).

El procedimiento experimental llevado a cabo consta de tres fases. En la primera de ellas, se definen las condiciones más apropiadas para el cultivo celular de las células de OS para el estudio de viabilidad celular, es decir, cuál es el número óptimo de células, qué tipo de placas utilizar etc. En la segunda, se estudia el comportamiento de las células cuando se someten a un calentamiento externo. Para ello,

se calientan hasta 42°C unas placas en las que las células acaban de ser depositadas (antes de su adhesión) y otros en las que las células ya han estado 24 horas de incubación (después de adherirse).

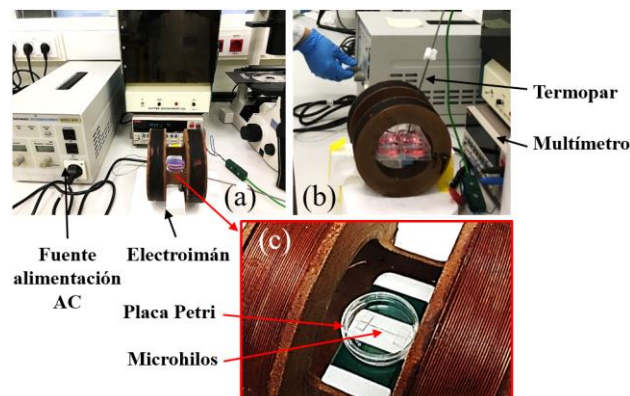


Figura 2. Banco de ensayos para los ensayos de hipertermia magnética. (a) generador de campos magnéticos alternos, (b) monitor de temperatura y (c) incubación de células.

Por último, en la tercera fase, las células se incuban durante 24 horas a 37°C y 5% CO_2 en placas Petri o en placas de pocillos a una concentración de 1×10^6 células/ml. Tras el periodo de incubación, las células se exponen durante 50 minutos a distintas condiciones:

- Únicamente a los microhilos magnéticos
- A un campo magnético alterno sin microhilos
- A un campo magnético alterno con microhilos
- Ni a campo magnético ni a microhilos (control)

En las condiciones en las que se aplica un campo magnético, las células se exponen en distintos experimentos a campos magnéticos altos (220V, 50Hz, 2.5A), medios (185V, 50Hz, 2.0A) y bajos (150V, 50Hz, 1.6A). Después de la exposición, las células se vuelven a incubar bajo las mismas condiciones y se estudia su viabilidad mediante el uso de un hemocitómetro, contando el número de células en distintos momentos a lo largo del tiempo.

Además, también se han realizado ensayos utilizando hilos no metálicos, en este caso hilo dental, para estudiar su efecto en la viabilidad celular.

3. Resultados y discusión

3.1. Condiciones de cultivo celular

Se ha determinado que las condiciones óptimas para el cultivo de las células de osteosarcoma sea sembrar en placas Petri estériles (de 60x15mm) una cantidad de 1×10^6 células por ml de medio de cultivo. Estas condiciones favorecen la viabilidad, diferenciación y cuantificación celular.

3.2. Respuesta celular al calentamiento externo

Mediante la utilización de un *hot-plate*, se han calentado algunas células antes de que se adhirieran a la placa y otras después de su adhesión a las 24 horas. Los resultados muestran que calentar las células antes de que se adhieran hace que a las 24 horas sigan despegadas de la placa (Figura 3.a). Sin embargo, el calentarlas una vez que ya se

adherido a la placa provoca muerte celular masiva (Figura 3.c).

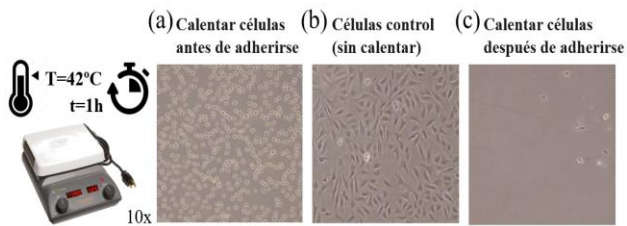


Figura 3. Resultados del calentamiento celular de manera externa antes de que se adhirieran (a), sin calentar (b) y calentados después de su adhesión (c). Todas las imágenes han sido tomadas a las 24 horas de la condición de calentamiento.

3.3. Respuesta celular a los microhilos y a los campos magnéticos

En primer lugar, se ha estudiado el efecto que tiene sobre las células la utilización de microhilos no magnéticos (hilo dental), tanto en presencia como en ausencia de campos magnéticos. En ambos casos se ha visto que la viabilidad celular permanece inalterada, en comparación con el control (sin hilos y sin campo magnético).

A continuación, se han realizado ensayos utilizando microhilos magnéticos, pero sin la aplicación de campos magnéticos. En este caso, al igual que en los anteriores, también se ha visto que las células permanecen intactas.

Por último, se ha estudiado la incidencia que tiene la aplicación de campos magnéticos a distintas intensidades durante 50 minutos, bien utilizando microhilos magnéticos o sin ellos (Figura 4). Para el caso de los campos magnéticos altos (220V, 50Hz, 2.5A), se ha visto que sin los microhilos se muere una pequeña cantidad de células, al ser analizadas a las 24 horas, mientras que con los microhilos prácticamente todas las células mueren. De hecho, del primer al segundo caso la viabilidad celular disminuye un 96%, siendo en ambos casos 42°C la temperatura máxima alcanzada. Cabe destacar también que las células que no estaban adheridas en el momento de realizar el ensayo con los microhilos tampoco se adhirieron posteriormente.

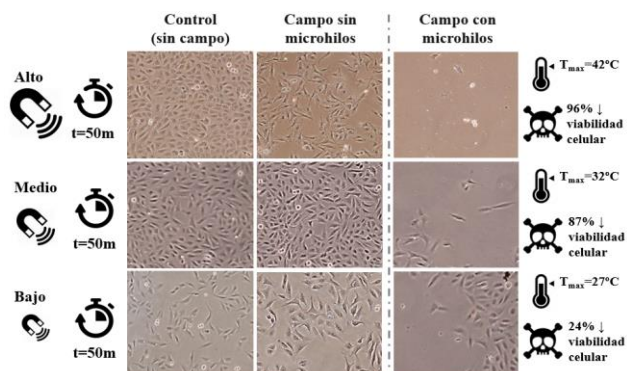


Figura 4. Resultados que muestran la viabilidad celular después de haber tratado las células de OS con diferentes campos magnéticos en presencia y en ausencia de microhilos.

Para los campos magnéticos medios (185V, 50Hz, 2.0A), al contrario que pasaba con los altos, no se produce muerte celular cuando no están presentes los microhilos. Sin

embargo, cuando sí que son utilizados la tasa de muerte celular vuelve a ser elevada (Figura 4). En este caso, la viabilidad celular se ve disminuida un 87%, valor algo menor que en el caso de los campos altos. Lo mismo sucede con la temperatura máxima alcanzada, que en este caso es de 32°C.

Por último, a la hora de utilizar campos magnéticos bajos (120V, 50Hz, 1.6A), tampoco sucede muerte celular al aplicar únicamente el campo magnético. Al aplicarlo conjuntamente con los microhilos magnéticos, al igual que en los casos anteriores ocurre muerte celular (Figura 4), aunque con esta intensidad únicamente se consigue una reducción de la viabilidad celular del 24%, es decir, aún queda una gran cantidad de células viables. En este caso, la máxima temperatura alcanzada es de 27°C.

Para todos los casos representados en la Figura 4, tal y como se ha comentado anteriormente, la viabilidad celular ha sido estudiada 24 horas después de la exposición al campo magnético correspondiente. Sin embargo, también se han realizado algunos experimentos a las 2 y a las 48 horas, obteniendo en ambos casos resultados similares.

En resumen, de acuerdo con todos los resultados mostrados, se puede afirmar que, de manera *in vitro*, la exposición de las células de OS a campos magnéticos alternos bajos, medios y altos junto con la utilización de microhilos magnéticos hace que la viabilidad celular se vea disminuida de manera significativa. No ocurre así cuando las células son únicamente expuestas a campos magnéticos alternos o a microhilos magnéticos, sin compaginar las dos condiciones.

4. Conclusiones

El osteosarcoma es el principal y más agresivo tumor óseo que afecta principalmente a niños y adolescentes. A pesar de que se han realizado avances en el desarrollo de nuevas terapias para su tratamiento, la supervivencia de los pacientes que lo sufren sigue siendo baja, por lo que es necesaria la búsqueda de nuevas vías.

Aquí es donde entra en juego la hipertermia, que se ha presentado como una alternativa menos agresiva, capaz de dañar las células tumorales minimizando el daño producido al tejido sano circundante. Sin embargo, se han realizado pocos estudios en relación a la utilización de microhilos magnéticos para inducir hipertermia y estudiar su incidencia en la viabilidad de células tumorales.

En este trabajo, se han realizado una serie de experimentos utilizando microhilos magnéticos amorfos recubiertos de vidrio para calentar células de osteosarcoma utilizando campos magnéticos alternos. De acuerdo a los resultados mencionados anteriormente, se demuestra que la utilización conjunta de microhilos magnéticos y campos magnéticos alternos resulta en una significativa reducción en la viabilidad celular de las células de osteosarcoma utilizadas. Además, siendo esta reducción dependiente de la intensidad del campo magnético aplicado, cuanto mayor es el campo mayor es la cantidad de células dañadas.

Por todo esto, se confirma la hipertermia dirigida mediante la utilización de microhilos magnéticos como una

alternativa novedosa, efectiva y sobre todo menos invasiva para el tratamiento de pacientes afectados por osteosarcoma.

microwires, *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, vol 249, sup 1-2, 2002, pp 79-84

Agradecimientos

Por último, agradecer a Tamag Ibérica S.L. por proporcionarnos los microhilos magnéticos para poder llevar a cabo este estudio y a Fomento de San Sebastián por financiar el proyecto de investigación.

Referencias

- [1] Página web de Cancer Research UK, <http://www.cancerresearchuk.org> (Consultada: Septiembre 2017).
- [2] Página web de la Asociación Española Contra el Cáncer (AECC) <https://www.aecc.es> (Consultada: Septiembre 2017).
- [3] Peris-Bonet R, Salmeron D, Martinez-Beneito MA, Galceran J, Marcos-Gragera R, Felipe S, Gonzalez V, Sanchez de Toledo Codina J. Childhood cancer incidence and survival in Spain, *Annals of Oncology*, vol 21, sup 3, 2010, pp 103-110
- [4] Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics 2009, *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, vol 59, sup 4, 2009, pp 225-249
- [5] Casciato DA. Manual of Clinical Oncology, *The Journal of the American Medical Association*, vol 291, sup 20, 2004, pp 2415-2417
- [6] Fan QY, Ma BA, Qiu XC, Li YL, Ye J, Zhou Y. Preliminary report on treatment of bone tumors with microwave-induced hyperthermia, *Bioelectromagnetics*, vol 17, sup 3, 1996, pp 218-222
- [7] Fan QY, Ma BA, Zhou Y, Zhang MH, Hao XB. Bone tumors of the extremities or pelvis treated by microwave-induced hyperthermia, *Clinical Orthopaedics and Related Research*, vol 406, 2003, pp 165-175
- [8] Binns C. Magnetic nanoparticle hyperthermia treatment of tumours, *Nanostructured Materials for Magneto-electronics*, cap 8, 2013, pp 197-215, Springer Series in Materials Science, vol 175
- [9] Ortega D, Pankhurst Q. Magnetic hyperthermia, *Nanoscience: Vol 1: Nanostructures through Chemistry*, cap 3, 2013, pp 60-88, Royal Society of Chemistry: Cambridge
- [10] Kumar CS, Mohammad F. Magnetic nanomaterials for hyperthermia-based therapy and controlled drug delivery, *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol 63, sup 9, 2011, pp 789-808
- [11] Talaat A, Alonso J, Zhukova V, Garaio E, García JA, Srikanth H, Phan MH and Zhukov A. Ferromagnetic glass-coated microwires with good heating properties for magnetic hyperthermia, *Scientific Reports*, vol 6, art num 39300, 2016
- [12] Goto T, Nagano M, Wehara N. Mechanical properties of amorphous Fe₈₀P₁₆C₃B₁ filament produced by glass-coated melt spinning, *Transactions of the Japan Institute of Metals*, vol 18, num 11, 1977, pp 759-764
- [13] Zhukova V, Blanco JM, Ipatov M, Zhukov A. Effect of transverse magnetic field on domain wall propagation in magnetically bistable glass-coated amorphous microwires, *Journal of Applied Physics*, vol 106, num 113914, 2009
- [14] Zhukova V, Cobeño AF, Zhukov A, de Arellano Lopez AR, López-Pombero S, Blanco JM, Larin V, Gonzalez J. Correlation between magnetic and mechanical properties of devitrified glass-coated Fe_{71.8}Cu₁Nb_{3.1}Si₁₅B_{9.1}

Caracterización de la respuesta a la estimulación beta-adrenérgica en el síndrome LQT1

D. A. Sampedro-Puente¹, J. Fernandez-Bes^{1,2}, E. Pueyo^{1,2}

¹ Grupo BSICoS, I3A, IIS Aragón, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España, {sampedro, jfbes, epueyo}@unizar.es

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

Resumen

El síndrome de QT largo tipo 1 (LQT1) se asocia con mutaciones en los canales de la corriente rectificadora de potasio lenta, I_{Ks} . En este síndrome se ha documentado que la estimulación beta-adrenérgica (β -AS) conduce en numerosas ocasiones a eventos arritmicos. Sin embargo, no existe una descripción completa de los mecanismos iónicos subyacentes a la arritmogénesis asociada al LQT1 bajo condiciones de β -AS. En este trabajo, se ha desarrollado un conjunto de modelos estocásticos ventriculares humanos que reproducen las propiedades de potenciales de acción (AP) experimentales, tanto para condiciones de control como bajo bloqueos iónicos. Utilizando este conjunto de modelos ha podido demostrarse que tanto la duración del AP (APD) como su morfología y variabilidad latido-a-latido son muy dependientes de las características iónicas subyacentes. Del mismo modo, se ha observado que la respuesta de las células individuales a la simulación conjunta de bloqueo iónico de I_{Ks} y β -AS puede variar desde valores insignificantes a incrementos superiores al 200% en la variabilidad temporal del AP, siendo éste un reconocido marcador arritmogénico. Finalmente, por medio de un análisis de correlaciones parciales se han determinado los principales factores iónicos que favorecen los cambios en el AP asociados al síndrome de LQT1 bajo condiciones de β -AS.

1. Introducción

Los pacientes afectados por el síndrome de QT largo, enfermedad congénita que causa la prolongación anormal del intervalo QT, poseen un alto riesgo de experimentar arritmias potencialmente mortales. En los pacientes con la variante más común, el síndrome de QT largo tipo 1 (LQT1), el 90% de los eventos letales ocurren durante el estrés físico o emocional, condiciones asociadas a una mayor actividad simpática [1]. Por ello, encontrar marcadores que anticipen el riesgo proarrítmico en condiciones de LQT1 e identificar los mecanismos involucrados es esencial para el desarrollo de terapias individualizadas.

Estudios previos disponibles en la literatura han explorado anomalías potencialmente pro-arrítmicas en la duración y morfología de la repolarización ventricular en pacientes con LQT1, así como en experimentos animales que abordan esta canalopatía [2-3]. Se ha sugerido que la variabilidad latido-a-latido del potencial de acción (AP) ventricular y de la morfología de la onda T del electrocardiograma en respuesta a la estimulación simpática son marcadores de inestabilidad arrítmica en el síndrome LQT1 [4-5]. Sin embargo, es importante señalar que se han descrito reacciones muy variadas a la estimulación simpática y la generación de arritmias en

pacientes con la misma mutación LQT1 y también en animales en los que se ha inducido el síndrome LQT1 farmacológicamente.

En este estudio se han utilizado modelos computacionales estocásticos de la electrofisiología ventricular para investigar las respuestas individuales de las células humanas a la estimulación adrenérgica bajo condiciones de LQT1 y se han determinado los mecanismos subyacentes a dichas respuestas.

2. Métodos

2.1. Modelado y simulación del AP

El modelo ventricular humano propuesto por O'Hara *et al.* (ORd) [6] ha servido de base para construir un conjunto de modelos de AP seleccionados específicamente para cubrir una gama de características observadas experimentalmente. Se ha empleado el método *Latin Hypercube Sampling* para el muestreo de las conductancias, designadas como G , de las principales corrientes iónicas, entre las que se incluyen I_{Ks} , I_{Kr} , I_{to} , I_{CaL} , I_{Na} e I_{K1} , dentro del rango de $\pm 100\%$ de su valor nominal (refiriéndonos a estos incrementos o decrementos sobre el valor nominal como *sobrerregulación* e *infrarregulación*, respectivamente). El conjunto inicial de 100 modelos se redujo posteriormente a 35 modelos viables, eliminando aquellos que no reproducían las propiedades fisiológicas del AP en estado estacionario a distintas frecuencias de estimulación y en respuesta a bloqueos iónicos [7-9]. Cada uno de estos modelos representa una célula virtual con características iónicas diferenciadas.

Para investigar la variabilidad latido-a-latido de la repolarización observada en experimentos *in-vivo* e *in-vitro*, se ha añadido estocasticidad a cada uno de los modelos AP construidos. Específicamente, las ecuaciones que describen el comportamiento de apertura de los canales iónicos de I_{Ks} , I_{Kr} , I_{to} e I_{CaL} se modificaron añadiendo un término aleatorio inversamente proporcional a la raíz cuadrada del número de canales [10]. Este número de canales se obtuvo, para cada tipología iónica, dividiendo la conductancia global del modelo entre la conductancia iónica unitaria descrita experimentalmente [11-12].

Para simular el síndrome de LQT1 se bloqueó al 90% la corriente I_{Ks} . Los efectos de la estimulación beta-adrenérgica (β -AS) sobre la electrofisiología ventricular humana se modelaron utilizando el enfoque descrito en [13], calculando los niveles de fosforilación de los

sustratos celulares de proteína quinasa A (PKA) calculados de acuerdo a [14] y a las actualizaciones posteriores descritas en [15]. Se simuló una dosis de $1 \mu\text{M}$ del agonista β -adrenérgico isoproterenol (ISO), nivel que conduce a efectos máximos.

La integración numérica se realizó por medio del método Euler-Maruyama, con un paso de tiempo $dt = 0.02$ ms. Para asegurar la convergencia de los resultados, la longitud total de cada una de las simulaciones se definió en 2500 ciclos, con una frecuencia de estimulación de 1 Hz, donde los primeros 500 ciclos correspondieron a las condiciones de control, los siguientes 500 ciclos a condiciones de LQT1 y, finalmente, 1500 ciclos en los que se simularon condiciones conjuntas de β -AS y LQT1.

2.2. Marcadores del AP

Se evaluaron los siguientes marcadores derivados del AP, tradicionalmente empleados para caracterizar su duración y forma [11], en los últimos 100 ciclos de cada condición simulada (control, LQT1 y LQT1 junto con β -AS):

- Promedio de la duración del AP al 90% de repolarización (APD):

$$\text{APD} = \frac{1}{100} \sum_{n=1}^{100} \text{APD}_{90}(n) \quad (1)$$

donde $\text{APD}_{90}(n)$ es la duración del AP al 90% de repolarización para el latido n de los últimos 100 ciclos de cada condición.

- Promedio de la triangulación del AP (TR), calculado como:

$$\text{TR} = \frac{1}{100} \sum_{n=1}^{100} \text{TR}(n) \quad (2)$$

donde $\text{TR}(n) = \text{APD}_{90}(n) - \text{APD}_{50}(n)$, siendo $\text{APD}_{50}(n)$ la duración del AP al 50% de repolarización para el latido n de los últimos 100 latidos de cada condición.

- Promedio de la variabilidad a corto plazo (STV, Short-Term Variability):

$$\text{STV} = \frac{1}{K} \sum_{i=1}^K \sum_{n=1}^{N-1} \frac{|\text{APD}_{90}(n+1) - \text{APD}_{90}(n+1+i)|}{(N-1)\sqrt{2}} \quad (3)$$

donde $K = 100 - N + 1$. Los valores instantáneos de STV se calculan en ventanas de $N = 30$ latidos y posteriormente se promedian entre las K ventanas existentes en los últimos 100 ciclos de cada condición.

- Promedio de la variabilidad a largo plazo (LTV, Long-Term Variability):

$$\text{LTV} = \frac{1}{K} \sum_{i=1}^K \sum_{n=1}^{N-1} \frac{|\text{APD}_{90}(n+1) + \text{APD}_{90}(n+1+i) - 2\overline{\text{APD}}_i|}{(N-1)\sqrt{2}} \quad (4)$$

donde $\overline{\text{APD}}_i$ representa el promedio del APD_{90} para los 30 latidos existentes dentro de la ventana i .

Finalmente, se llevó a cabo un análisis de correlación parcial lineal para evaluar las correlaciones entre las conductancias de las corrientes iónicas y los valores de los marcadores de AP descritos anteriormente [11]. Los

coeficientes obtenidos a partir de esta correlación parcial se denotaron por ρ_x , donde x representa ΔAPD , ΔTR , ΔSTV y ΔLTV , los cuales simbolizan los cambios en APD, TR, STV o LTV respectivamente, inducidos por la estimulación β -AS bajo el síndrome LQT1.

3. Resultados y Discusión

3.1. Morfología y Duración del AP

La Fig. 1 presenta la respuesta de tres células virtuales diferentes al efecto de la inhibición al 90% de I_{Ks} y a β -AS. Los valores de $\text{APD}_{90}(n)$ (panel superior) y $\text{TR}(n)$ (panel inferior) se muestran para cada una de las tres fases de la simulación: control, LQT1 y LQT1 junto con β -AS. Como puede observarse en la figura, los valores de APD y TR son mayores en LQT1 que en el periodo de control para las tres células ilustradas. Sin embargo, el grado de aumento de APD y TR depende notablemente de la célula evaluada. Para la célula mostrada en negro, puede observarse una prolongación elevada del valor de APD y TR, mientras que el cambio inducido por la inhibición de I_{Ks} en las otras dos células es menor.

La aplicación de ISO provoca una repentina caída transitoria en los valores de $\text{APD}_{90}(n)$ y $\text{TR}(n)$ en las tres células ilustradas, seguida de un lento incremento en el valor de ambos marcadores del AP. Nuevamente, los valores obtenidos para el grado de cambio en APD y TR debido al efecto de β -AS bajo condiciones de LQT1 son significativamente diferentes para cada una de las tres células ilustradas, variando desde cambios insignificantes hasta incrementos/decrementos de gran valor, como ocurre particularmente en el caso de APD.

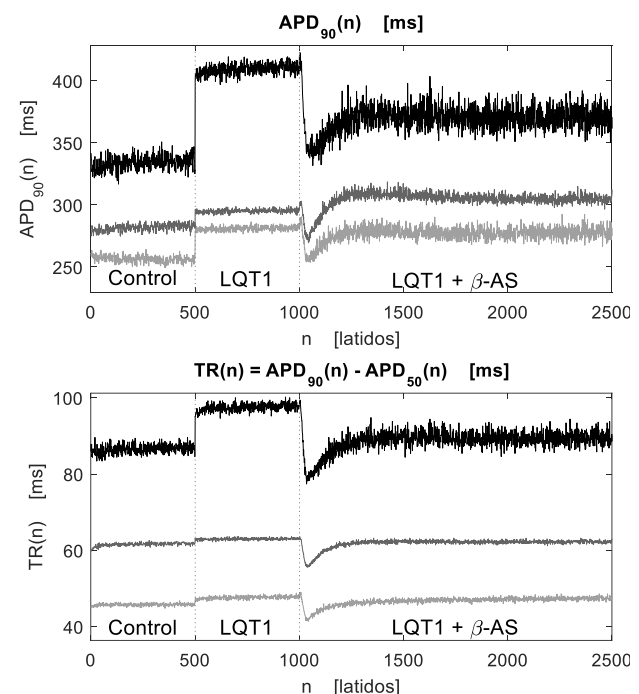


Figura 1. Valores de $\text{APD}_{90}(n)$ y $\text{TR}(n)$ para las tres células virtuales simuladas con distintas características iónicas. Las líneas de puntos verticales delimitan los periodos de tiempo correspondientes a cada una de las zonas simuladas: control, LQT1 y LQT1 + β -AS.

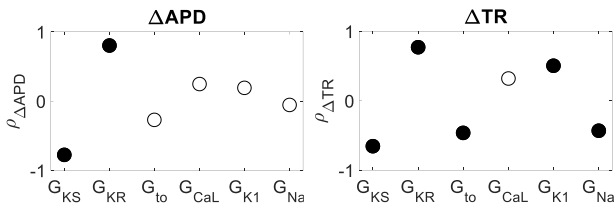


Figura 2. Panel izquierdo: Coeficientes obtenidos para la correlación parcial entre ΔAPD y las conductancias de las corrientes iónicas, mostrándose con círculos negros las correlaciones parciales significativas. Panel derecho: De manera similar para ΔTR .

La Fig. 2 muestra los resultados del análisis de correlación parcial obtenidos al evaluar las diferencias en los valores de APD y TR entre las fases LQT1 + β -AS y LQT1. Para el valor de ΔAPD se ha obtenido una correlación significativamente positiva con respecto a la conductancia G_{KR} . En cambio, se obtiene una correlación negativa significativa con respecto a la conductancia G_{KS} . Debido a esto se espera que las células con LQT1 y una fuerte sobreexpresión de I_{Kr} o infraregulación de I_{Ks} experimenten grandes incrementos de APD en respuesta a β -AS. En cuanto a ΔTR , se han encontrado correlaciones negativas o positivas significativas con todas las conductancias excepto G_{CaL} , tal y como puede observarse en el panel derecho de la Fig. 2. Esto nos indica que la sobreexpresión de I_{Kr} o I_{K1} y la infraregulación de I_{Ks} , I_{to} o I_{Na} tendrá un gran impacto en el aumento de la triangulación del AP por efecto de β -AS.

3.2. Variabilidad latido-a-latido

Los resultados de la variabilidad temporal de APD_{90} se presentan en la Fig. 3 para las mismas tres células virtuales citadas en el anterior apartado 3.1. En la columna izquierda pueden verse los gráficos de Poincaré para las fases de control, LQT1 y LQT1 + β -AS en los últimos 100 ciclos de las cada una de estas condiciones. Las medidas correspondientes de STV se muestran en la columna derecha para las tres células virtuales. Como puede observarse en la Fig. 3, STV experimenta cambios de leves a moderados en respuesta a la inhibición de I_{Ks} (ΔSTV_{LQT1}), con porcentajes de cambio que varían entre -45% y 20% para el conjunto de células simuladas.

El cambio en STV debido a los efectos de β -AS es aún más diverso en la población de células simuladas. Mientras que muchas células, como las que se muestran en la Fig. 3, presentan un aumento importante en STV (alcanzándose un valor máximo del 214%), también hay células donde STV apenas cambia o incluso llega a disminuir ligeramente. Además, es importante resaltar que los cambios obtenidos en STV debidos a la inhibición del 90% de la corriente I_{Ks} o a la estimulación β -AS han resultado ser independientes del valor de APD.

Un ejemplo que puede resaltarse de los resultados de STV obtenidos es el de la segunda y tercera células virtuales simuladas. Aunque ambas células presentan unos valores de APD similares en la primera fase de la simulación (control), reflejan cambios muy distintos en STV debido al efecto de la inhibición de I_{Ks} , en concreto un descenso del 33% y del 7%, respectivamente. Igualmente ocurre para el

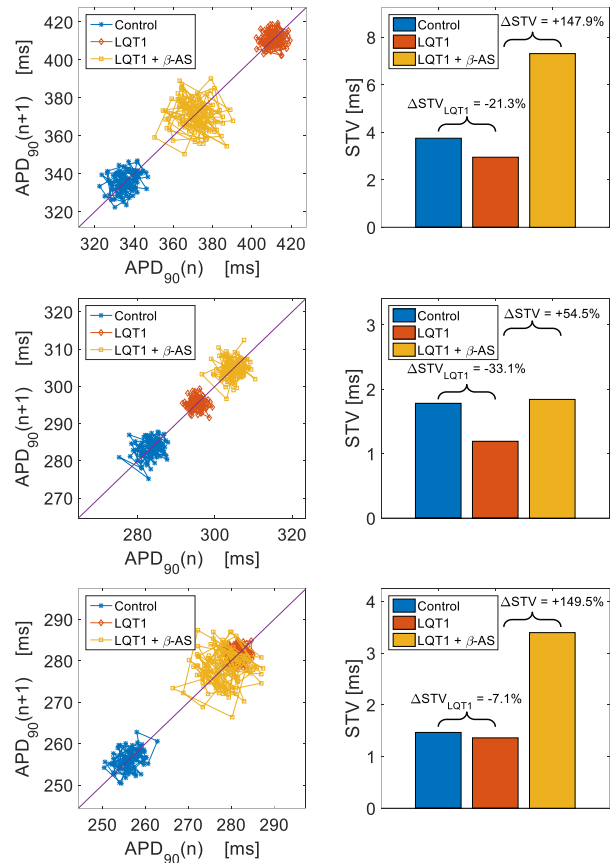


Figura 3. Columna izquierda: Gráficos de Poincaré para las tres células virtuales bajo condiciones de control (azul), LQT1 (rojo) y LQT1 + β -AS (amarillo). Columna derecha: Valores correspondientes de STV y porcentajes de cambio debidos a la inhibición de I_{Ks} y a β -AS.

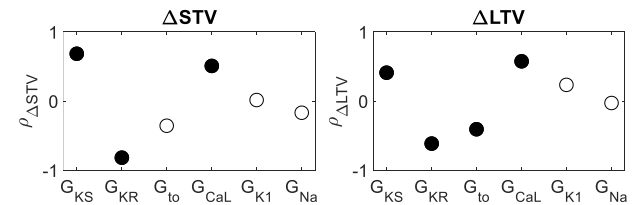


Figura 4. Panel izquierdo: Coeficientes obtenidos para la correlación parcial entre ΔSTV y las conductancias de las corrientes iónicas, mostrándose con círculos negros las correlaciones parciales significativas. Panel derecho: De manera similar para ΔLTV .

cambio de STV asociado a β -AS, ya que, aun partiendo de unos niveles similares de APD en ambas células para las condiciones de LQT1, el efecto de β -AS ha provocado un incremento de STV del 55% en la segunda célula y del 150% en la tercera. Esta respuesta altamente inter-individual de STV al LQT1 y a la acción adrenérgica posterior (β -AS) se ha observado de forma similar para la variabilidad temporal a larga escala (LTV).

En la Fig. 4 se muestran los resultados obtenidos a partir de la correlación parcial para las diferencias en STV y LTV entre las fases LQT1 + β -AS y LQT1. De acuerdo con los resultados obtenidos, el valor de STV se correlaciona de

manera significativamente positiva con G_{Ks} y G_{CaL} , sin embargo para G_{Kr} existe una correlación significativa negativa. Del mismo modo, en el caso de LTV se ha observado además una correlación significativamente negativa con G_{to} . El papel clave de las corrientes I_{Ks} e I_{CaL} en la modulación de la respuesta de STV y LTV a β -AS puede atribuirse al gran aumento de estas dos corrientes inducidas por la fosforilación mediada por PKA.

4. Conclusiones

Mediante la construcción de un conjunto de modelos estocásticos de células ventriculares humanas que representan las propiedades de AP experimentales se ha procedido a caracterizar la respuesta de las diferentes células individuales al efecto del síndrome LQT1 y de la estimulación adrenérgica. Se han observado cambios muy heterogéneos en los valores de APD, triangulación y variabilidad temporal dependiendo de las características iónicas de las células. Para algunas células, la estimulación adrenérgica bajo condiciones de LQT1 no ha tenido prácticamente ningún efecto sobre el AP, mientras que para otras células han llegado a cuantificarse incrementos mayores al 200%, particularmente con respecto al valor de la variabilidad latido-a-latido del AP. Se han determinado los factores iónicos que subyacen a la naturaleza de la respuesta a la estimulación adrenérgica bajo condiciones de síndrome LQT1.

En futuros trabajos está previsto estudiar distintos grados de inhibición de la corriente I_{Ks} y analizar otros protocolos de estimulación diferentes al considerado en este estudio. Asimismo, se prevé llevar a cabo simulaciones en tejidos a partir de las cuales se deriven señales electrocardiográficas sobre las que podrían cuantificarse marcadores descriptivos de las distintas respuestas caracterizadas en este estudio, los cuales serían de utilidad en la práctica clínica para la estratificación de riesgo de pacientes con el síndrome LQT1.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos TIN2013-41998-R y DPI2016-75458-R del MINECO, España, MULTITOOLS2HEART del CIBER-BBN a través del Instituto de Salud Carlos III, España, por el Fondo Social Europeo (EU) y el Gobierno de Aragón a través del contrato predoctoral de D. A. Sampedro Puente y del grupo consolidado BSICoS (T96), y por el European Research Council (ERC) a través del proyecto ERC-2014-StG 638284. Los cálculos numéricos se llevaron a cabo en la unidad de cómputo de altas prestaciones ICTS NANBIOSIS, CIBER-BBN, Universidad de Zaragoza.

Referencias

- [1] P. J. Schwartz *et al.*, “Genotype-phenotype correlation in the long-QT syndrome: gene-specific triggers for life-threatening arrhythmias,” *Circulation*, vol. 103, no. 1, pp. 89–95, Jan. 2001.
- [2] G.-X. Liu *et al.*, “Differential conditions for early afterdepolarizations and triggered activity in cardiomyocytes derived from transgenic LQT1 and LQT2 rabbits,” *J. Physiol.*, vol. 590, no. 5, pp. 1171–1180, Mar. 2012.
- [3] C. Jons *et al.*, “Use of Mutant-Specific Ion Channel Characteristics for Risk Stratification of Long QT Syndrome Patients,” *Sci. Transl. Med.*, vol. 3, no. 76, p. 76ra28-76ra28, Mar. 2011.
- [4] K. Satomi *et al.*, “Response of beat-by-beat QT variability to sympathetic stimulation in the LQT1 form of congenital long QT syndrome,” *Hear. Rhythm*, vol. 2, no. 2, pp. 149–154, Feb. 2005.
- [5] D. Gallacher *et al.*, “In vivo mechanisms precipitating torsades de pointes in a canine model of drug-induced long-QT1 syndrome,” *Cardiovasc. Res.*, vol. 76, no. 2, pp. 247–256, Nov. 2007.
- [6] T. O’Hara, L. Virág, A. Varró, and Y. Rudy, “Simulation of the Undiseased Human Cardiac Ventricular Action Potential: Model Formulation and Experimental Validation,” *PLoS Comput. Biol.*, vol. 7, no. 5, p. e1002061, May 2011.
- [7] N. Jost *et al.*, “Abstract 1520: Molecular Basis of Repolarization Reserve Differences between Dogs and Man,” *Circulation*, vol. 118, no. Suppl 18, 2016.
- [8] T. O’Hara and Y. Rudy, “Quantitative comparison of cardiac ventricular myocyte electrophysiology and response to drugs in human and nonhuman species,” *AJP Hear. Circ. Physiol.*, vol. 302, no. 5, pp. H1023–H1030, Mar. 2012.
- [9] E. Grandí, F. S. Pasqualini, and D. M. Bers, “A novel computational model of the human ventricular action potential and Ca transient,” *J. Mol. Cell. Cardiol.*, vol. 48, no. 1, pp. 112–121, Jan. 2010.
- [10] N. G. van. Kampen, *Stochastic processes in physics and chemistry*. Elsevier, 2007.
- [11] E. Pueyo *et al.*, “Experimentally-Based Computational Investigation into Beat-To-Beat Variability in Ventricular Repolarization and Its Response to Ionic Current Inhibition,” *PLoS One*, vol. 11, no. 3, p. e0151461, Jan. 2016.
- [12] E. Pueyo *et al.*, “A multiscale investigation of repolarization variability and its role in cardiac arrhythmogenesis,” *Biophys. J.*, vol. 101, no. 12, pp. 2892–2902, Dec. 2011.
- [13] E. Pueyo, M. Orini, J. F. Rodríguez, and P. Taggart, “Interactive effect of beta-adrenergic stimulation and mechanical stretch on low-frequency oscillations of ventricular action potential duration in humans,” *J. Mol. Cell. Cardiol.*, vol. 97, pp. 93–105, Aug. 2016.
- [14] A. R. Soltis and J. J. Saucerman, “Synergy between CaMKII Substrates and β -Adrenergic Signaling in Regulation of Cardiac Myocyte Ca^{2+} Handling,” *Biophys. J.*, vol. 99, no. 7, pp. 2038–2047, Oct. 2010.
- [15] Y. Xie, E. Grandí, J. L. Puglisi, D. Sato, and D. M. Bers, “ β -adrenergic stimulation activates early afterdepolarizations transiently via kinetic mismatch of PKA targets,” *J. Mol. Cell. Cardiol.*, vol. 58, pp. 153–161, May 2013.

Estudio de la conectividad neuronal dinámica en la enfermedad de Alzheimer

P. Núñez¹, J. Poza¹, C. Gómez¹, S.J. Ruiz¹, A. Martín¹, M. A. Tola-Arribas², M. Cano³, R. Hornero¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, pablo.nunez@gib.tel.uva.es

² Servicio de Neurología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España

³ Servicio de Neurofisiología Clínica, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España

Resumen

El objetivo de este estudio fue caracterizar las propiedades dinámicas de la conectividad funcional de la actividad electroencefalográfica (EEG) espontánea en la enfermedad de Alzheimer (EA). Se calculó el módulo al cuadrado de la coherencia (MSCOH) de 62 enfermos con demencia debida a EA y 36 controles cognitivamente sanos. Se estimó la MSCOH en tramas de 30 segundos con ventanas no solapadas de diferentes longitudes (1, 2, 3, 5 y 10 segundos) y se estudió: (i) la variabilidad de la conectividad funcional entre cada par de electrodos en la banda alfa (8 - 13 Hz) en función del tamaño de la ventana; (ii) si las fluctuaciones observadas reflejaban cambios reales de conectividad funcional mediante un análisis de subrogación; y (iii) la estabilidad de la medida en función del tamaño de la ventana. Los resultados muestran una reducción significativa de la conectividad dinámica de los enfermos de EA respecto a los controles en las ventanas de 2 y 3 segundos. Asimismo, se concluye que parte de la variabilidad en la medida se podría deber a conectividad funcional dinámica.

1. Introducción

La demencia por enfermedad de Alzheimer (EA) es una patología neurodegenerativa caracterizada por la acumulación de proteínas beta-amiloide y tau [1]. La EA es la enfermedad neurodegenerativa más común y la principal causa de demencia [1]. Unas 900,000 personas sufren de demencia en España, lo que supone un coste aproximado de 22,000 millones de euros anuales [2].

Las redes cerebrales coordinadas temporalmente que sustentan las funciones cognitivas se vuelven más y más anormales a lo largo de la progresión de la EA, con aparición de trastornos en el procesamiento y transmisión de la información [1]. Esto se puede reflejar en alteraciones de los patrones de sincronización y conectividad neuronal asociados a esta patología [3]. La banda alfa es importante para la caracterización de las alteraciones de la EA en registros EEG de actividad basal, ya que esta banda sufre un decremento de potencia relativa en enfermos EA [1].

Los estudios de conectividad funcional (FC) suelen asumir que ésta es constante durante los registros en reposo. Sin embargo, es importante tener en cuenta las fluctuaciones espontáneas de la actividad cerebral, ya que ésta no es estacionaria durante el estado basal [4]. Por tanto, la cuantificación de los cambios dinámicos en las medidas de FC puede aportar información relevante sobre las propiedades de las redes cerebrales [5].

La mayor parte de estudios de conectividad funcional dinámica (dFC) existentes se han realizado sobre imágenes de resonancia magnética funcional (fMRI) [5]. Resulta, por tanto, de gran interés el estudio de la dFC sobre registros electroencefalográficos (EEG). En el caso concreto de la EA, sólo un número reducido de estudios

ha abordado la caracterización de los patrones de la variabilidad de la FC [5].

Por todas estas razones, este trabajo presenta una metodología novedosa, que pretende obtener una primera aproximación a la dinámica de la FC en la EA. Concretamente, en este estudio se abordan las siguientes preguntas de investigación: (i) ¿existe conectividad dinámica en enfermos de EA y controles sanos en la banda alfa?; (ii) ¿difieren los patrones de dFC entre grupos?; (iii) ¿qué tamaño de ventana se necesita para obtener medidas de conectividad estables?

2. Materiales

2.1. Sujetos

Se analizó una población de 98 sujetos: 36 sujetos sanos de control (C) y 62 pacientes con EA. Existen diferencias significativas en edad (p -valor < 0.05 , test de Kruskal-Wallis) pero no en sexo (p -valor de 0.4, test Chi-cuadrado). Los enfermos fueron diagnosticados según los criterios del *National Institute on Aging and Alzheimer's Association* (NIA-AA) [6]. Los controles eran personas de edad avanzada sin deterioro cognitivo, ni historial de enfermedades neurológicas o psiquiátricas. Ninguno de los participantes tomaba medicamentos que pudieran influir en los registros EEG.

Las características socio-demográficas de cada grupo se especifican en la tabla 1. Todos los participantes y los cuidadores de los pacientes fueron informados sobre la investigación y el protocolo del estudio y dieron su consentimiento escrito e informado. El Comité Ético del Hospital Universitario "Río Hortega" (Valladolid, España) aprobó el estudio de acuerdo al Código Ético de la Asociación Médica Mundial (Declaración de Helsinki).

2.2. Registros electroencefalográficos

Las señales EEG se registraron mediante un sistema EEG de 19 canales (XLTEK[®], Natus Medical) en el Servicio de Neurofisiología Clínica del Hospital Universitario "Río Hortega" (Valladolid, España). La actividad EEG se adquirió en los electrodos F_{p1}, F_{p2}, F_z, F₃, F₄, F₇, F₈, C_z, C₃, C₄, T₃, T₄, T₅, T₆, P_z, P₃, P₄, O₁ y O₂, con una frecuencia de muestreo de 200 Hz. Los sujetos permanecieron con los ojos cerrados, despiertos e inmóviles durante la adquisición del EEG. Para prevenir el adormecimiento se monitorizaron los registros EEG en tiempo real. Los episodios de somnolencia, artefactos oculares y actividad muscular fueron identificados y marcados durante el registro.

Se registraron 5 minutos de actividad EEG de cada sujeto siguiendo el protocolo descrito. A continuación se preprocesaron los registros en tres pasos: (i) filtrado con

un filtro de ranura (50 Hz) y uno paso-banda de ventana de Hamming ([1 70] Hz); (ii) segmentación en épocas de 30 segundos; y (iii) rechazo visual de artefactos, seleccionándose los 30 primeros segundos consecutivos sin artefactos por sujeto.

3. Métodos

3.1. Estimación de la variabilidad

Existen una serie de medidas que analizan la consistencia entre los EEG de diferentes pares de electrodos con el objetivo de caracterizar la conectividad e interacciones entre regiones del cerebro [7]. La coherencia (COH) es una medida consolidada que aúna información de magnitud y de fase. Se define como [7]:

$$COH_{xy}(f) = \frac{S_{XY}(f)}{\sqrt{P_X(f)P_Y(f)}} \quad (1)$$

donde S_{XY} es el espectro cruzado de las señales X e Y , y P_X y P_Y son sus espectros de potencia.

La COH es un número complejo. Si calculamos el módulo al cuadrado de la COH obtenemos la MSCOH, que combina la aportación de la sincronía de magnitud y de fase de las dos señales. Se define como [7]:

$$MSCOH_{xy}(f) = |COH_{xy}(f)|^2 = \frac{|S_{XY}(f)|^2}{P_X(f)P_Y(f)} \quad (2)$$

3.2. Protocolo

Con el objetivo de estudiar la dinámica de los patrones de acoplamiento de conectividad funcional, se segmentaron las tramas de 30 segundos mediante ventanas sin superposición. A continuación se calculó la MSCOH entre los 19 electrodos para cada ventana. Para calcular el espectro de potencia necesario para obtener la MSCOH en cada ventana, se usó el método de Welch con segmentos de 250 ms. Tras promediar los valores de MSCOH en la banda alfa (8-13 Hz) se obtuvo en primer lugar el valor promedio de MSCOH:

$$\mu_{MSCOH} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N MSCOH_{xy}^i \quad (3)$$

donde N es el número de ventanas total. Así como la desviación estándar de la MSCOH:

$$\kappa_{MSCOH} = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (MSCOH_{xy}^i - \mu_{MSCOH})^2} \quad (4)$$

donde N es el número de ventanas total. Este procedimiento se realizó para ventanas de 1, 2, 3, 4, y 10 segundos.

Datos	EA	C
Número de sujetos	62	36
Edad (años)	79.9 ± 5.6	76.3 ± 3.9
Sexo (H:M)	26:36	12:24
Nivel de educación (A:B)	46:16	11:25
MMSE	20.9 ± 3.8	28.9 ± 1.2

Tabla 1. Características socio-demográficas de la base de datos. Valores medios ± desviación estándar. EA: enfermos de Alzheimer; C: controles; H: hombre; M: mujer; A: educación primaria o inferior; B: educación secundaria o superior; MMSE: Mini-Mental State Examination.

3.3. Detección de la conectividad dinámica

Es importante tener en cuenta que la presencia de fluctuaciones en las medidas de conectividad no es prueba suficiente de que exista dFC, ya que no se puede ignorar el hecho de que los valores observados de conectividad son estimaciones de los valores reales, debido a la naturaleza ruidosa de los registros [8]. Por ello, para decidir si las fluctuaciones observadas reflejan cambios reales de FC se debe realizar un test estadístico adecuado [8]. Un posible método consiste en la construcción de versiones subrogadas de las señales originales, para posteriormente calcular las mismas medidas de conectividad en las señales subrogadas. Tras ello, se determina si el valor de un estadístico obtenido con las señales originales tiene un z -valor significativo respecto a la distribución de los valores del mismo estadístico obtenidos con las versiones subrogadas de las señales [8]. En este estudio el estadístico usado fue la κ_{MSCOH} [8]. Es muy importante que las versiones subrogadas de las señales originales se generen bajo una hipótesis nula adecuada.

En el caso de dFC, las señales subrogadas deben construirse manteniendo la conectividad estática en cada instante temporal, pero eliminando la variación dinámica de la misma [8]. De esta forma, la hipótesis alternativa sería que existe conectividad dinámica y la hipótesis nula que no. Se construyeron 1000 versiones subrogadas de cada segmento EEG a partir de las señales originales mediante el método descrito por Prichard y Theiler [9]. Este método consiste en alterar aleatoriamente por igual la fase de los registros EEG de todos los canales en el dominio de la frecuencia, de forma que la conectividad estática en cada instante se mantenga pero la dinámica se elimine [8].

3.4. Análisis estadístico

En primer lugar se realizó un análisis exploratorio para evaluar la distribución de los valores de κ_{MSCOH} . La normalidad se evaluó con el test de Shapiro-Wilk y la homocedasticidad con el test de Levene. Los resultados mostraron que los valores de κ_{MSCOH} no cumplían las condiciones de los test paramétricos. Por ello se utilizó el test U de Mann-Whitney para evaluar las diferencias en κ entre grupos para cada par de electrodos.

Se usó el test de Friedman sobre los valores de μ_{MSCOH} para detectar posibles efectos de la longitud de la ventana sobre la estabilidad las medidas de MSCOH. En caso que el test de Friedman mostrara un efecto significativo, se aplicó el test de Dunn de múltiples comparaciones para determinar la ventana en la cual las medidas de MSCOH comenzaban a ser estables, definida como la ventana de mayor longitud sin diferencias con ventanas más largas [10].

4. Resultados y discusión

Se obtuvo la MSCOH para cada época entre todos los canales en la banda alfa (8-13 Hz). A continuación, se calculó μ_{MSCOH} y κ_{MSCOH} entre cada par de electrodos para cada sujeto. Se obtuvo la MSCOH a su vez en 1000 versiones subrogadas de las tramas originales y se calculó la κ_{MSCOH} entre cada par de electrodos para cada una de ellas. A partir de la distribución de κ_{MSCOH} subrogadas se

determinó si κ_{MSCOH} en cada par de electrodos y para cada sujeto era significativa en base a los z -valores obtenidos.

4.1. Patrones de conectividad dinámica

La figura 1 muestra las κ_{MSCOH} promedio de cada par de electrodos y para cada ventana, así como los resultados de la comparación de κ_{MSCOH} entre los dos grupos y el número total de sujetos en los que κ_{MSCOH} para cada par de

electrodos era significativa. Se observa que κ_{MSCOH} aumenta según disminuye el tamaño de la ventana, siendo además por lo general inferior en los enfermos de EA. Este resultado apoya lo obtenido en otros estudios en los que se observó una pérdida de irregularidad y variabilidad en la actividad neuronal asociada a la EA [3]. Por otra parte, el análisis de subrogación indica que en la mayoría de conexiones no se puede rechazar la hipótesis nula.

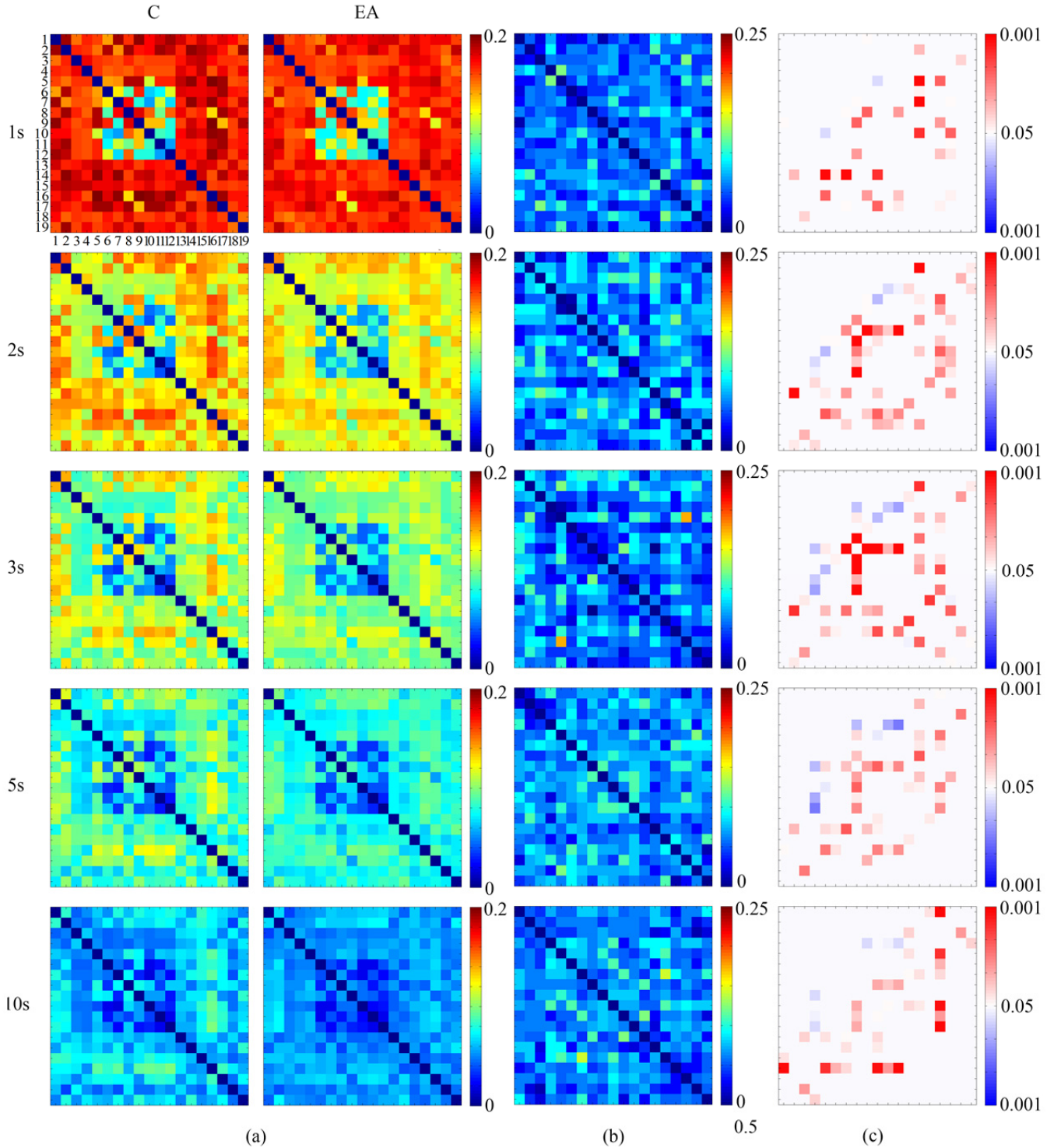


Figura 1. Análisis de dFC en MSCOH en la banda alfa para EA y C en función del tamaño de la ventana. (a) κ entre cada par de electrodos. (b) número de sujetos (en tanto por 1) en los que κ_{MSCOH} entre dos pares de canales se puede considerar significativa. (c) p -valores estadísticamente significativos en la comparación de κ_{MSCOH} entre grupos. Los valores en rojo indican valores mayores en los controles, mientras que los valores en azul indican valores mayores en los pacientes con EA. Correspondencia de canales 1: C3, 2: C4, 3: O1, 4: O2, 5: Cz, 6: F3, 7: F4, 8: F7, 9: F8, 10: Fz, 11: Fp1, 12: Fp2, 13: P3, 14: P4, 15: Pz, 16: T3, 17: T4, 18: T5, 19: T6

4.2. Diferencias entre grupos

El patrón de diferencias entre grupos es similar para todos los tamaños de ventana; sin embargo, para ventanas de 2 y 3 segundos los patrones muestran un mayor nivel de significación. Esto podría sugerir que en estas ventanas se encuentra el punto ideal necesario para extraer la máxima información posible sobre la dFC mediante la MSCOH. De manera similar, un estudio previo de fMRI encontró diferencias en el tiempo en que cada grupo modificaba el patrón modular de red (i.e., modificaba la configuración de grupos de nodos determinados conectados densamente) [11]. Se realizó una comparativa entre grupos de μ_{MSCOH} y apenas se encontraron diferencias significativas. La interpretación de estos resultados puede ser múltiple. Es posible que exista dFC y que se refleje mejor en ventanas cortas, lo que podría sugerir que se debería reducir el tamaño de las mismas para explorar la dinámica de las redes neuronales [10]. Sin embargo, no se puede descartar que las estimaciones de la conectividad funcional son más ruidosas para tramas más cortas [10], lo que es apoyado por el pequeño número de sujetos en los que κ_{MSCOH} se puede considerar significativa. A pesar de ello, el hecho de que haya diferencias significativas entre grupos podría ser considerado suficiente prueba de la existencia de dFC, sobre todo porque no hay apenas diferencias para μ_{MSCOH} [5].

4.3. Estabilidad de la medida

En la figura 2 se muestran los μ_{MSCOH} promedio de todos los canales en cada grupo en función del tamaño de la ventana. En ambos grupos el test de Friedman indicó un efecto significativo. Para ambos grupos las medidas se estabilizan para ventanas de 3 segundos (test de Dunn), lo que podría indicar que esta ventana ofrece equilibrio de robustez y caracterización de la dFC. En un estudio previo se encontró que otras medidas de conectividad se estabilizaban para 12 y 6 segundos respectivamente [10]. Esto sugiere que a la hora de calcular dFC es importante estudiar la estabilidad de la medida de forma previa.

4.4. Limitaciones y líneas futuras

Este estudio tiene algunas limitaciones. En primer lugar, sería conveniente aumentar la base de datos con más sujetos e intentar equilibrar el número de controles y pacientes con EA, así como eliminar las diferencias en edad. Una posible línea futura sería analizar la variabilidad de FC en otras bandas de frecuencia, con otras medidas y sobre segmentos de tamaños mayores de 30 segundos.

5. Conclusión

En este estudio se ha caracterizado la dFC de la actividad neuronal en la EA usando como medida la κ_{MSCOH} de la MSCOH. Los resultados sugieren que la κ_{MSCOH} observada en los registros EEG basales de ambos grupos depende de la longitud de la ventana sobre la que se calculen las medidas de FC. Por otra parte, se observó que las medidas de MSCOH se estabilizan para ventanas de 3 segundos. Estos resultados sugieren que el tamaño de las ventanas es un parámetro importante a tener en cuenta a la hora de medir dFC y muestra que ésta puede ser una línea de investigación prometedora para la ayuda al diagnóstico de la EA mediante EEG.

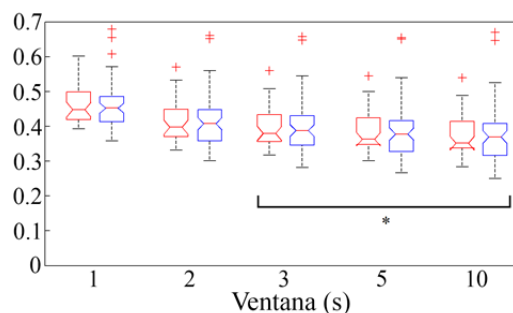


Figura 2. μ_{MSCOH} en controles (azul) y pacientes con EA (rojo) en función del tamaño de la ventana. *: ventanas estables según el test de Dunn.

Agradecimientos

Este estudio ha sido parcialmente financiado por los proyectos TEC2014-53196-R del Ministerio de Economía y Competitividad y FEDER, el proyecto ‘Análisis y correlación entre el genoma completo y la actividad cerebral para la ayuda en el diagnóstico de la enfermedad de Alzheimer’ (Programa de cooperación inter-regional V-A España-Portugal POCTEP 2014-2020) de la Comisión Europea y FEDER, y el proyecto VA037U16 de la Consejería de Educación y FEDER. P. Núñez y S. J. Ruiz disfrutaban de una beca predoctoral cofinanciada por la Junta de Castilla y León y FEDER.

Referencias

- [1] C. Babiloni *et al.*, “Brain neural synchronization and functional coupling in Alzheimer’s disease as revealed by resting state EEG rhythms,” *Int. J. Psychophysiol.*, 103: 88–102, 2015.
- [2] Economist Intelligence Unit, “Assesing the Socioeconomic Impact of Alzheimer’s disease in Western Europe and Canada,” 2017.
- [3] J. Poza *et al.*, “Spatio-Temporal fluctuations of neural dynamics in mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease,” *Curr. Alzheimer Res.*, 1: 1–14, 2017.
- [4] E. C. A. Hansen *et al.*, “Functional connectivity dynamics: Modeling the switching behavior of the resting state,” *Neuroimage*, 105: 525–535, 2015.
- [5] R. M. Hutchison *et al.*, “Dynamic functional connectivity: Promise, issues, and interpretations,” *Neuroimage*, 80: 360–378, 2013.
- [6] G. McKhann *et al.*, “The diagnosis of dementia due to Alzheimer’s disease: Recommendations from the National Institute on Aging- Alzheimer’s Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer’s disease,” *Alzheimers Dement.*, 7(3): 263–269, 2011.
- [7] B. J. Roach y D. H. Mathalon, “Event-related EEG time-frequency analysis: An overview of measures and an analysis of early gamma band phase locking in schizophrenia,” *Schizophr. Bull.*, 34(5): 907–926, 2008.
- [8] R. Hindriks *et al.*, “Can sliding-window correlations reveal dynamic functional connectivity in resting-state fMRI?,” *Neuroimage*, 127: 242–256, 2016.
- [9] D. Prichard y J. Theiler, “Generating surrogate data for time series with several simultaneously measured variables,” *Phys. Rev. Lett.*, 73(7): 951–954, 1994.
- [10] M. Fraschini *et al.*, “The effect of epoch length on estimated EEG functional connectivity and brain network organisation,” *J. Neural Eng.*, 13(3): 36015, 2016.
- [11] D. T. Jones *et al.*, “Non-stationarity in the ‘resting brain’s’ modular architecture,” *PLoS One*, 7(6): 2012.

Hidrogeles termosensibles basados en quitosano para liberación dual de fármaco

O. Sánchez^{1,*}, C. Bello^{1,*}, N. Arranz¹, A. Larrañaga¹, A. Lejardi¹, J.R. Sarasua¹

¹ Departamento de Ingeniería Minero-Metalúrgica y Ciencia de los Materiales y POLYMAT, Universidad del País Vasco, Bilbao, España

* Ambos autores han contribuido equitativamente en el presente trabajo

Resumen

En el presente trabajo, se han desarrollado hidrogeles termosensibles nano-/microcompuestos basados en quitosano/poli(vinil alcohol) como sistemas poliméricos que permiten la liberación dual de fármacos solubles e insolubles en agua. Dicho sistema presenta una transición sol-gel cercana a la temperatura corporal (es decir, se comporta como un líquido inyectable por debajo de la temperatura corporal mientras que presenta una consistencia semisólida por encima de la misma) que, junto con su buena biocompatibilidad y no citotoxicidad, lo convierten en un sistema polimérico con amplio potencial en aplicaciones biomédicas. El agente terapéutico soluble en agua (es decir, Tianfenicol) es directamente incorporado durante la fabricación del gel mientras que el agente no soluble en agua (es decir, curcumina) es previamente encapsulado en nano-/micropartículas de poli(D,L-lactida) que son posteriormente incorporadas en la estructura tridimensional del hidrogel.

1. Introducción

Los sistemas poliméricos para la liberación controlada de fármacos se basan en la incorporación de un activo terapéutico a una estructura polimérica y su consiguiente liberación en respuesta a un estímulo biológicamente relevante (p.ej., pH, temperatura, etc.), estímulo externo (p.ej., radiación infrarroja, ultrasonidos, etc.) o por difusión controlada al medio [1].

De particular interés para aplicaciones biomédicas son aquellos sistemas poliméricos que permiten la liberación dual de activos terapéuticos solubles e insolubles en agua. Entre ellos destacan los liposomas o su alternativa sintética, los polimersomas, que permiten incorporar simultáneamente fármacos solubles en agua en su interior y fármacos insolubles en agua en su membrana [2, 3].

Alternativamente, la fabricación de hidrogeles nano-/microcompuestos también permite el desarrollo de sistemas poliméricos para la liberación dual de fármacos. Los hidrogeles son redes poliméricas tridimensionales hidrofílicas que contienen una gran cantidad de agua. Sus estructuras son porosas, lo cual permite la carga de fármacos solubles en agua durante su fabricación, para poder después liberarlos por difusión [4]. Es posible utilizarlos como sistemas de liberación dual, incorporando micelas o nano-/micropartículas poliméricas cargadas de fármacos insolubles en agua en su matriz tridimensional [5]. En el presente trabajo, se ha desarrollado un hidrogel nano-/microcompuesto basado en nano-/micropartículas de poli(D,L-lactida) (PDLLA) cargadas de curcumina (es

decir, insoluble en agua) que están embebidas en un hidrogel termosensible de base quitosano/poli(vinil alcohol) (CS/PVA) cargado con Tianfenicol (es decir, soluble en agua).

El quitosano (CS) consiste en un aminopolisacárido semicristalino que se obtiene mediante desacetilación de la quitina y está siendo ampliamente utilizado en ámbitos biomédicos y farmacéuticos [6]. Esto se debe a propiedades como la no toxicidad, biodegradabilidad, o la excelente biocompatibilidad, las cuales resultan muy favorables en el campo médico.

El PVA es un copolímero semicristalino de acetato de vinilo y alcohol de vinilo soluble en agua. Al igual que el quitosano, cuenta con propiedades muy adecuadas para aplicaciones biomédicas, destacando su buena biocompatibilidad y no toxicidad [7].

Una de las mayores ventajas que ofrecen estos hidrogeles de CS/PVA es que no es necesario el uso de agentes entrecruzantes para su fabricación, formándose la red tridimensional a través de interacciones físicas. Además son termosensibles, presentando una temperatura de transición sol-gel cercana a la temperatura corporal (es decir, 37°C) [8]. De este modo, a temperaturas menores a la corporal, se comporta como un líquido inyectable que se transforma en un hidrogel semisólido a temperatura corporal, lo cual lo hace muy útil en varias aplicaciones biomédicas, incluyendo la liberación de fármacos o la ingeniería de tejidos [9].

Por otro lado, la limitación de estos hidrogeles para transportar drogas hidrofóbicas, debida a la pobre solubilidad de la droga en la matriz del hidrogel, puede ser solventada mediante la encapsulación del fármaco en partículas formadas a partir de polímeros sintéticos biodegradables [8] y posterior incorporación de las mismas en el sistema. Aquí se han utilizado nano- y micropartículas poliméricas de PDLLA, que es un polímero ampliamente utilizado en diversas aplicaciones biomédicas (p.ej., suturas, matrices de anclaje tridimensional, elementos de fijación, etc.) y está aprobado por la FDA (*Food and Drug Administration*), para incorporar un fármaco no soluble en agua (es decir, curcumina) en el hidrogel arriba mencionado. Tras una extensa caracterización morfológica de las nano-/micropartículas y los hidrogeles nano-/microcompuestos mediante microscopía electrónica de barrido y dispersión

dinámica de luz, se estudió la liberación dual de curcumina y Tianfenicol de dichos sistemas.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

La poli(D,L-lactida) (PDLLA, $M_w=75000$) fue adquirida de Purac, mientras que el poli(vinil alcohol) (PVA, $M_w=13000-23000$), la poli(D-glucosamina) (quitosano, CS, bajo peso molecular), el bicarbonato sódico (NaHCO_3), el tampón fosfato salino (PBS), el Tianfenicol ($\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{Cl}_2\text{NO}_5\text{S}$, $M_w=356.22$) y la curcumina ($\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_6$, $M_w=368.38$, $\geq 80\%$ curcumina) fueron suministrados por Sigma Aldrich, al igual que el ácido clorhídrico (HCl). El resto de los disolventes como el acetato de etilo extra puro, el metanol (MetOH, 99,8%), el etanol (EtOH, 96%) y el cloroformo fueron adquiridos en LabKem. Finalmente, el agua destilada desionizada fue suministrada por Iberia Agua.

2.2. Fabricación de partículas

La fabricación de nano-/micropartículas de PDLLA se llevó a cabo mediante el proceso de emulsión simple aceite en agua. En primer lugar, se disolvieron durante 1 hora en agitación magnética 45 mg de PDLLA y 5 mg de curcumina en 2,5 ml de acetato de etilo, para obtener la fase aceitosa. Tras ello, la fase aceitosa se añadió gota a gota sobre la fase acuosa (10 ml de PVA 1%) bajo agitación magnética. La emulsión formada se mantuvo en agitación durante 1 hora. A continuación, se homogeneizó la emulsión usando un homogeneizador a 25000 rpm (UltraTurrax) para la fabricación de micropartículas o un sonicador para la fabricación de nanopartículas durante 3 minutos en baño de hielo para evitar el sobrecalentamiento de la emulsión. Finalmente, la emulsión se vertió en 27,5 ml de agua destilada manteniéndola en agitación durante toda la noche a 500 rpm, para asegurar la completa evaporación del acetato de etilo. Finalmente, se recolectaron las micro-/nanopartículas mediante centrifugación a 4500 rpm durante 10 minutos y se lavaron extensamente con agua destilada antes de secarse en cámara de vacío a temperatura ambiente durante toda la noche.

2.3. Fabricación de hidrogeles cargados de partículas

Para llevar a cabo la fabricación del hidrogel cargado de nano-/micropartículas de PDLLA, se preparó una disolución de 3 ml de 0,5% PVA a 4°C, a la que se añadieron 0,6 ml de NaHCO_3 (1M) bajo agitación magnética. De esta disolución se extrajo 1 ml que se utilizó para resuspender 66 mg de nano-/micropartículas de PDLLA. Tras garantizar una completa redispersión de las partículas mediante sonicación, dichas partículas se devolvieron a la disolución de PVA. A continuación, dicha dispersión se añadió gota a gota a 3 ml de 2% CS en 0,1M HCl, manteniendo la temperatura de 4°C. Finalmente se añadieron 30 mg de Tianfenicol y, una vez asegurada su completa disolución, se repartió la mezcla en tres moldes de 1,5 ml cada uno, para introducirlo en el horno a 37°C durante 2 h y formar así el hidrogel (Figura 1).

2.4. Caracterización de partículas

Para realizar la caracterización morfológica de las nano- y micro partículas de PDLLA se usó el microscopio electrónico de barrido (SEM, Hitachi S-3400 N), operando a 10.0 kV. En el caso de las nanopartículas, también se utilizó la dispersión dinámica de luz (DLS, Malvem Nano ZS90) con el fin de estimar la distribución de tamaños obtenida.

Para conocer la Eficiencia de Encapsulación (E.E.) y la Capacidad de Carga (L.C.) de las partículas, éstas se disolvieron en una solución de cloroformo:metanol 1:10. Tras su completa disolución, se determinó la concentración de curcumina en la disolución mediante espectroscopía UV (Perkin Elmer, Lambda 265) con la ayuda de una recta de calibrado previamente preparada con disoluciones de concentración conocidas en el rango de 0-20 ppm. Las medidas de absorbancia se tomaron a 425 nm.

$$E.E. = \frac{\text{Masa curcumina}}{\text{Masa curcumina teórica}} \times 100$$

$$L.C. = \frac{\text{masa curcumina}}{\text{masa curcumina} + \text{masa polímero}} \times 100$$

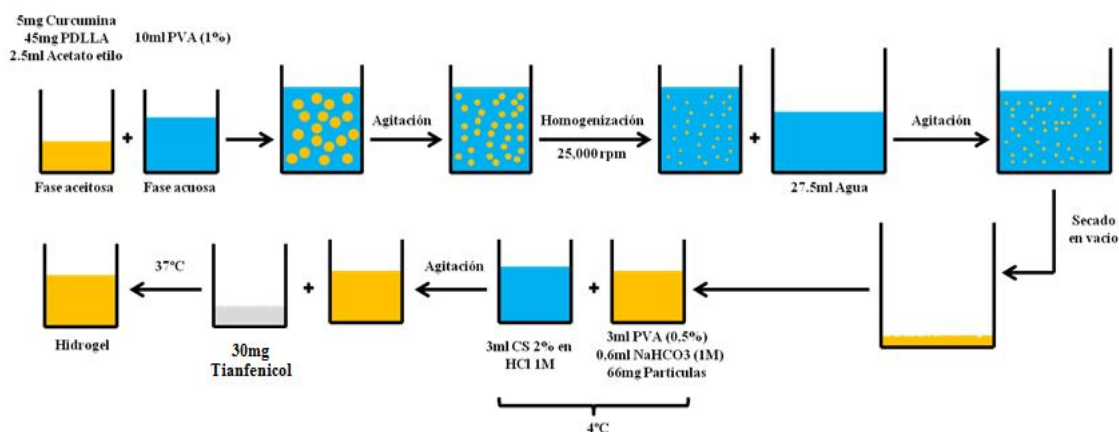


Figura 1. Proceso de fabricación del hidrogel con los fármacos

El ensayo de degradación hidrolítica de las nano-/micropartículas de PDLLA se llevó a cabo durante 1 mes. Para ello se fabricaron nano-/micropartículas de PDLLA con y sin curcumina, que se resuspendieron en PBS y se mantuvieron bajo agitación y a 37°C. Cada 7 días, se extrajo una muestra y, tras su secado, se determinó su peso molecular y su polidispersidad mediante cromatografía de permeación en gel (GPC, Waters 1515).

2.5. Caracterización de hidrogeles

Para realizar la caracterización morfológica de los hidrogeles cargados con nano-/micropartículas de PDLLA, el hidrogel formado se liofilizó y se observó mediante SEM.

Para realizar la medición de los fármacos liberados, inicialmente se preparó una curva de calibrado en PBS-etanol (50:50) mediante espectroscopía UV para cada uno de ellos, a unas longitudes de onda (λ) de 225 nm para el Tianfenicol (rango 0-20 ppm), y de 425 nm para la curcumina (rango 0-20 ppm). Posteriormente, las muestras se sumergieron en una solución de PBS-etanol (50:50) a 37°C y se extrajeron muestras de forma regular para determinar la liberación de los fármacos.

3. Resultados

3.1. Caracterización de partículas

La figura 2 muestra una micrografía SEM de las micropartículas de PDLLA cargadas con curcumina obtenidas mediante la emulsión simple aceite en agua. Las partículas presentan un tamaño medio de $1,14 \pm 0,66 \mu\text{m}$ y su distribución se muestra en la figura 3.

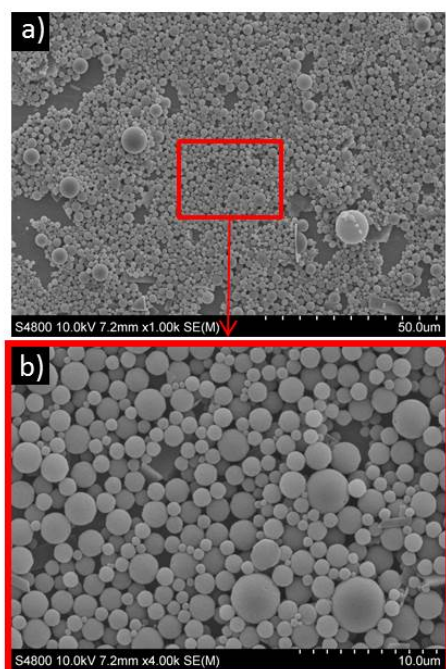


Figura 2. Microscopía SEM de micropartículas de PDLLA y curcumina a) 1000 aumentos y b) 4000 aumentos

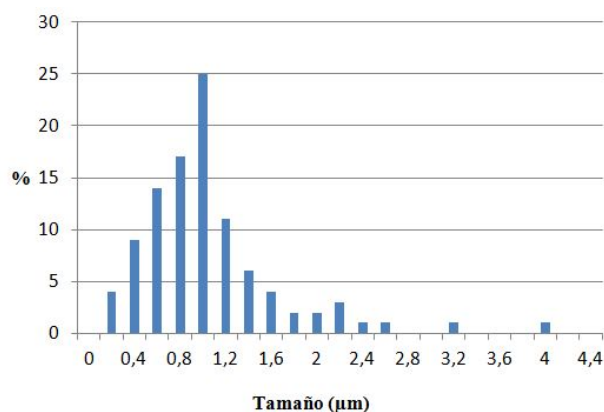


Figura 3. Histograma de la distribución de tamaño de partículas

Las micropartículas muestran una capacidad de carga de 5,55% y una eficiencia de encapsulación del 55,52% (Tabla 1).

	L.C. (%)	E.E. (%)
Micropartículas PDLLA	5,55	55,52

Tabla 1. Datos de L.C. y E.E.

Tal y como se puede observar en la Figura 4, las micropartículas de PDLLA apenas sufren degradación hidrolítica tras haber sido sumergidas en PBS a 37°C durante un mes. De este modo, el peso molecular de las micropartículas desciende ligeramente desde su valor inicial ($\sim 72 \times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$) a un valor de $\sim 64 \times 10^3 \text{ g mol}^{-1}$ tras un mes.

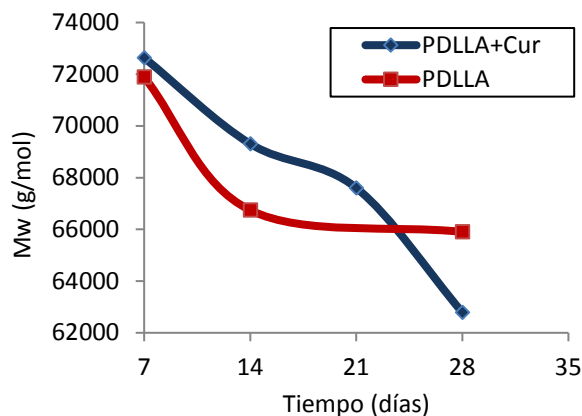


Figura 4. Degradación hidrolítica de partículas de PDLLA y partículas de PDLLA cargadas con curcumina

3.2. Caracterización de hidrogeles

La Figura 5 muestra la estructura del hidrogel tras ser liofilizado. Como se puede observar, se trata de una estructura altamente porosa en la que se pueden observar embebidas y bien distribuidas (destacadas en rojo) las micropartículas de PDLLA cargadas con curcumina.

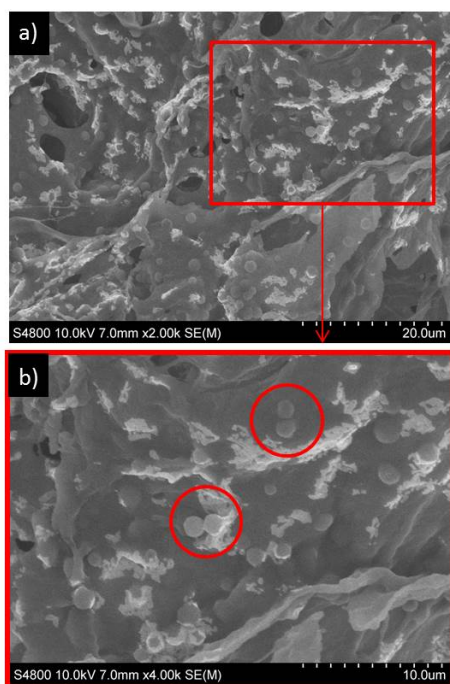


Figura 5. SEM de hidrogel con micropartículas de PDLLA a)2000 aumentos b)4000 aumentos con micropartículas señaladas en rojo

La Figura 6 muestra los perfiles de liberación de la curcumina y el Tianfenicol durante 24 h. Como se puede observar, el Tianfenicol es liberado completamente tras 10 h, indicando una rápida liberación que puede ser asociada a su baja interacción con el hidrogel y a su buena solubilidad en agua. Por el contrario, sólo el ~30% de la curcumina fue liberada tras 24 h.

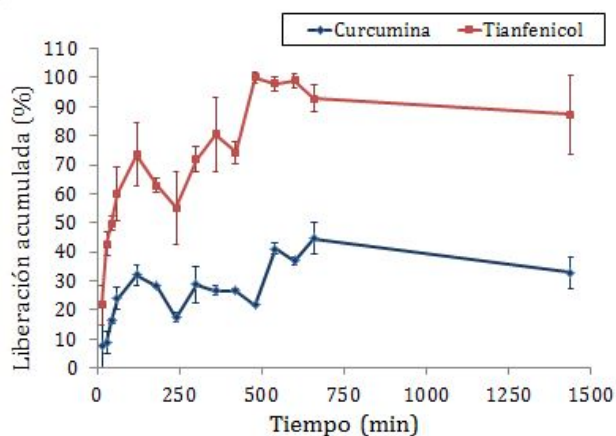


Figura 6. Liberación dual de ambas drogas del sistema.

4. Conclusiones y trabajos futuros

En el presente trabajo se han preparado hidrogeles termosensibles basados en quitosano que permiten la liberación simultánea de fármacos solubles e insolubles en agua gracias a la incorporación de nano-/micropartículas poliméricas de PDLLA en su estructura. Gracias a su inyectabilidad y su biocompatibilidad, estos hidrogeles presentan un amplio potencial en aplicaciones biomédicas para la liberación dual de fármacos. El fármaco soluble en agua es directamente incorporado en

la estructura del hidrogel durante su fabricación, lo que resulta en una rápida liberación debido a su buena solubilidad y baja interacción con la matriz. Por el contrario, para la completa liberación del fármaco no soluble en agua, es necesaria la progresiva degradación de las nano-/micropartículas poliméricas. Considerando la lenta degradación hidrolítica de las partículas de PDLLA estudiadas aquí, se están llevando a cabo actualmente estudios con poli(D,L-lactida-co-glicolida) (PLGA). Se espera que, debido a la más rápida degradación de las nano-/micropartículas de PLGA, la liberación de la curcumina ocurra de manera más rápida. Además, se están realizando estudios con nanopartículas. De este modo, se podrán establecer aquellos parámetros (es decir, tamaño de partículas, degradabilidad de las nano-/micropartículas) que determinan la liberación del fármaco no soluble en agua. Esto nos permitirá diseñar sistemas de liberación dual en los que la liberación de los fármacos pueda ser ajustada a la necesidad biomédica concreta.

Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo de los servicios generales de investigación de la UPV/EHU (SGIker) por su soporte con las medidas de SEM.

Referencias

- [1] Bhattarai N, Gunn J, Zhang M. Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol 62, 2010, pp 83-99.
- [2] Allen TM, Cullis PR. Drug delivery systems: entering the mainstream. *Science*, vol 303(5665), 2014, pp 1818-22.
- [3] Discher B, Won Y, Ege D, Lee J, Bates F, Discher D, Hammer D. Polymersomes: Tough Vesicles Made from Diblock Copolymers. *Science*, vol 284 (5417), 1999, pp 1143-1146.
- [4] Hoare T, Kohane D. Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer*, vol 49, 2008, pp 1993-2007.
- [5] Wei L, Cai C, Lin J, Chen T. Dual-drug delivery system based on hydrogel/micelle composites. *Biomaterials*, vol 30, 2009, pp 2606-2613.
- [6] Li X, Chen S, Zhang B, Li M, Diao K, Zhang Z, Li J, Xu y, Wang X, Chen H. *In situ* injectable nano-composite hydrogel composed of curcumin, N-O-carboxymethyl chitosan and oxidized alginate for wound healing application. *International Journal of Pharmaceutics*, vol 437, 2012, pp 110-119.
- [7] Sung J, Hwang M, Kim J, Lee J, Kim Y, Kim J, Chang S, Jin S, Kim J, Lyoo W, Han S, Ku S, Yong C, Choi H. Gel characterization and *in vivo* evaluation of minocycline-loaded wound dressing with enhanced wound healing using polyvinyl alcohol and chitosan. *International Journal of Pharmaceutics*, vol 392, 2010, pp 232-240.
- [8] McKenzie M, Betts D, Suh A, Bui K, Kim L, Cho H. Hydrogel-based drug delivery systems for poorly water-soluble drugs. *Molecules*, vol 20, 2015, pp 20397-20408.
- [9] Tang Y, Du Y, Hu X, Shi X, Kennedy J. Rheological characterisation of a novel thermosensitive chitosan/poly(vinyl alcohol) blend hydrogel. *Carbohydrate Polymers*, vol 67, 2007, pp 491-4

Método para visualización simultánea en imagen de rayos X de tejidos de muy diferente densidad

I. García Barquero^{1,2}, M. Desco Menéndez^{1,2,3,4}, M. Abella García^{1,2,3}

¹ Depto. Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial, Universidad Carlos III de Madrid, España, ingarcia@pa.uc3m.es, {monica.abella, manuel.desco}@uc3m.es

² Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España, {igarcia, desco, mabella}@hggm.es

³ Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC), Madrid, España

⁴ Centro de investigación en red en salud mental (CIBERSAM), Madrid, España

Resumen

A pesar del valor clínico de la imagen plana por rayos X, en estudios con tejidos de muy diferente densidad, como el tórax, no es posible obtener buen contraste en todas las estructuras de manera simultánea. Durante décadas se han estudiado algoritmos de mejora de contraste pero la mayoría son insuficientes para estos casos.

En este trabajo presentamos un método semi-automático de mejora de contraste para imágenes de rayos-X de tejidos de muy diferente densidad. La imagen final se obtiene a partir de la combinación de dos imágenes con mejora de contraste en tejido blando y denso por separado. Los pesos se calculan de forma automática maximizando la entropía de la imagen final.

Los resultados muestran que el algoritmo propuesto ofrece una mejora simultánea de contraste en ambos tipos de tejido en comparación con los métodos tradicionales.

1. Introducción

Desde su descubrimiento, la imagen de rayos X ha sido una herramienta clave para el diagnóstico; sin embargo, a pesar de su valor clínico, ofrece un contraste en tejido blando pobre. Durante décadas se han estudiado diferentes formas de mejorar el contraste de imágenes con bajo rango dinámico o para destacar detalles que, de otra forma, permanecerían escondidos [1]. De esta forma, podemos ayudar a los radiólogos a interpretar las imágenes con más precisión. Normalmente, estas técnicas se enfocan en mejorar el contraste en un rango determinado del histograma, lo que es insuficiente en estudios con tejidos de muy diferente densidad como son los de tórax, donde tenemos tejido muy poco denso como los pulmones y tejido muy denso como la columna.

Las técnicas de mejora de contraste pueden dividirse según el dominio en que actúan: espacial o de la frecuencia [1]. Las primeras se basan en la manipulación directa de los píxeles de la imagen mientras que en las segundas hay que transformar la imagen (con una transformada de Fourier o Wavelet, por ejemplo), realizar el procesamiento en ese dominio y aplicar la transformada inversa.

Entre los algoritmos en dominio espacial encontramos la ecualización de histograma (HE), que consiste en uniformar el histograma de la imagen de forma que todos los niveles de gris tengan la misma probabilidad de ocurrencia [1]. Este método produce una mejora de

contraste general pero no permite potenciar una estructura concreta. Para hacer frente a esta limitación, se han propuesto mejoras como la ecualización de bi-histograma (BBHE) [2], que preserva el brillo medio de la imagen; la ecualización dinámica de histograma (DHE) [3], que ecualiza sub-histogramas de la imagen; o la ecualización adaptativa con limitación de contraste (CLAHE) [4], que aplica la ecualización de forma adaptativa y recorta los intervalos del histograma para evitar zonas muy oscuras y/o brillantes.

Otro algoritmo en dominio espacial muy utilizado en la literatura es la corrección gamma (GC), que consiste en una transformación de los niveles de gris de la imagen de acuerdo a una función exponencial cuya curvatura se puede modular. Al igual que ocurre con las técnicas HE, la GC se puede aplicar a sub-histogramas o de forma adaptativa [5, 6]. Estos algoritmos nos permiten mejorar la visualización de tejidos concretos de la imagen a costa de perder contraste en otras estructuras.

Los métodos HE aumentan el rango dinámico de la imagen por lo que, necesariamente, asigna valores irreales a ciertos píxeles que pueden otorgarle un aspecto poco natural. Sin embargo, los métodos GC sólo actúan sobre el contraste de la imagen. En el caso concreto de trabajar con imagen médica, lo deseable es que la información no se vea modificada siendo los métodos GC más adecuados que las técnicas HE.

En este trabajo proponemos un método semi-automático basado en el trabajo de [7], que busca mejorar el contraste de las imágenes de rayos X potenciando la visualización simultánea de tejido blando y denso. La imagen procesada se obtiene a partir de la combinación lineal de dos imágenes resultado de aumentar el contraste en tejido blando y denso respectivamente. Tanto los parámetros de la combinación lineal como los que definen las curvaturas de las funciones gamma se obtienen automáticamente maximizando la entropía de la imagen final en una región de interés (ROI) seleccionada por el usuario.

2. Método propuesto

El método propuesto busca maximizar la entropía de la imagen de forma global, considerando la imagen entera, o local, en una ROI seleccionada por el usuario. La imagen procesada se obtiene a partir de la combinación lineal de

dos imágenes resultado de aumentar el contraste en tejido blando y denso respectivamente. A excepción de la selección de la ROI, que requiere la intervención del usuario, el algoritmo está totalmente automatizado.

La Figura 1 muestra el flujo de trabajo del método propuesto. En primer lugar, se duplica la imagen original ($I_{original}$) buscando en una de ellas el realce de los huesos (I_{hueso}) y en la otra del tejido blando (I_{blando}) por medio de una corrección gamma (γ). A continuación, ambas imágenes se combinan aplicándoles un cierto peso (α).

$$I_{hueso} = (I_{original})^\gamma, \quad \gamma > 1 \quad (1)$$

$$I_{blando} = (I_{original})^{\gamma^{-1}}, \quad \gamma > 1 \quad (2)$$

$$I_{final} = \alpha \cdot I_{hueso} + (1 - \alpha) \cdot I_{blando} \quad (3)$$

Para automatizar el algoritmo, buscamos la combinación de pesos y parámetros gamma que maximizan la entropía de la imagen final (global o localmente). Para conseguirlo, se busca qué parámetro de contraste es el óptimo para cada peso que estemos evaluando.

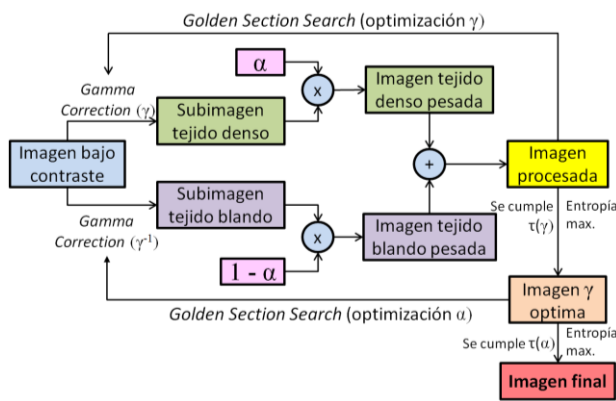


Figura 1. Flujo de trabajo del algoritmo

2.1. Realce de contraste

El realce de contraste en las subimágenes se basa en el algoritmo GC, que transforma los niveles de gris de la imagen de entrada de acuerdo a una función exponencial.

$$T(l) = l_{max} \cdot \left(\frac{l}{l_{max}}\right)^\gamma \quad (4)$$

donde $T(l)$ es la transformación del nivel de gris l -ésimo, l_{max} es el máximo nivel de gris de la imagen de entrada y γ es el parámetro que controla la curvatura de la función de transformación.

2.2. Algoritmo de optimización

Los parámetros de la función gamma que definen su curvatura (γ para imagen de hueso y γ^{-1} para tejido blando) así como los pesos por los coeficientes de la combinación lineal de las subimágenes (α para imagen de hueso y $1-\alpha$ para tejido blando) se obtienen aplicando una técnica de optimización conocida como “Golden Section Search” [8]. Este algoritmo busca el máximo (o mínimo) de una función unimodal dentro de un intervalo cerrado

$[a_0, b_0]$, como muestra la Figura 2. Iterativamente, se evalúan distintos puntos de la función reduciendo el intervalo $[a_i, b_i]$ hasta que se cumple una condición de terminación τ .

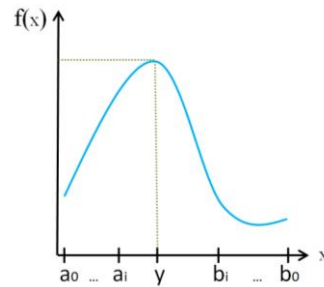


Figura 2. Punto “y” encontrado en una función unimodal mediante el algoritmo Golden Section Search después de $i+1$ iteraciones

Dado que la entropía está relacionada con la homogeneidad de los niveles de gris, siendo más baja cuanto menos niveles de grises diferentes tiene la imagen (es nula si la imagen es enteramente homogénea), una imagen con buen contraste tendrá una entropía alta [9]. Por tanto, como función de coste a maximizar hemos elegido la entropía, que se define como:

$$H(\alpha, \gamma) = - \sum P_i \cdot \log(P_i) \quad (5)$$

donde P_i es la función probabilidad de encontrar el nivel de gris i -ésimo entre los n posibles valores de nivel de gris de la imagen

La selección de los valores iniciales de γ , α y τ se ha hecho en base a los propuestos en [7]. Los rangos son $\gamma \in [1, 4]$, $\alpha \in [0, 1]$ y la condición de terminación para ambos casos es $\tau(\gamma) = \tau(\alpha) = 50$ iteraciones.

En la Figura 3 se muestra el proceso de reducción del intervalo para el parámetro α (siendo similar para el parámetro γ).

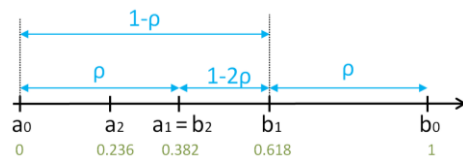


Figura 3. Reducción del intervalo del algoritmo Golden Section Search para las dos primeras iteraciones

En cada iteración se evalúa la entropía de la imagen para dos valores de α intermedios, seleccionados de forma que la reducción del rango sea simétrica, es decir:

$$a_1 - a_0 = b_0 - b_1 = \rho \cdot (b_0 - a_0) \quad (6)$$

donde ρ ha de ser menor de $\frac{1}{2}$. El valor escogido para nuestro método es el recomendado en [8]:

$$\rho = \frac{3 - \sqrt{5}}{2} \quad (7)$$

siendo, por tanto:

$$a_1 = 0.382 \quad (8)$$

$$b_1 = 0.618 \quad (9)$$

Si $H(a_1, \gamma) > H(b_1, \gamma)$, la máxima entropía se dará para α perteneciente al rango $[a_0, b_1]$. Además, a_1 se convertirá en uno de los nuevos puntos intermedios de la siguiente iteración ($a_1 = b_2$) y el otro punto intermedio lo calcularemos como:

$$a_2 = a_0 + \rho \cdot (b_1 - a_0) = 0.236 \quad (10)$$

En caso contrario, el máximo estará en el rango $[a_1, b_0]$, b_1 será uno de los puntos intermedios ($b_1 = a_2$) y

$$b_2 = a_1 + (1 - \rho) \cdot (b_0 - a_1) = 0.764 \quad (11)$$

Este proceso se repetirá iterativamente hasta que se cumpla el criterio de parada, es decir, hasta que el intervalo se reduzca tantas veces como iteraciones se han fijado.

3. Evaluación

Para evaluar el algoritmo hemos utilizado imágenes reales de rayos-X:

- Imagen de tórax postero-anterior de un maniquí antropomórfico modelo PBU-60 comercializado por la empresa Kyoto Kagaku. La imagen tiene contraste deficiente en hueso, tejido blando y pulmón,
- Imagen de tórax y abdomen lateral de perro cedida por el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad Complutense de Madrid. La imagen tiene bajo contraste en tejido blando.

La ROI seleccionada en cada caso está centrada en la zona donde tenemos especial interés en aumentar el contraste: la columna vertebral en la imagen de maniquí y el abdomen en la de perro. Las imágenes obtenidas mediante nuestro método se han comparado con las resultantes del algoritmo GC en las que se ha potenciado la visualización de tejido denso en el primer caso y de tejido blando en el segundo.

En la Figura 4 se muestra la imagen original de tórax de maniquí y los resultados de aplicar el algoritmo GC para visualizar mejor el hueso y el método propuesto.

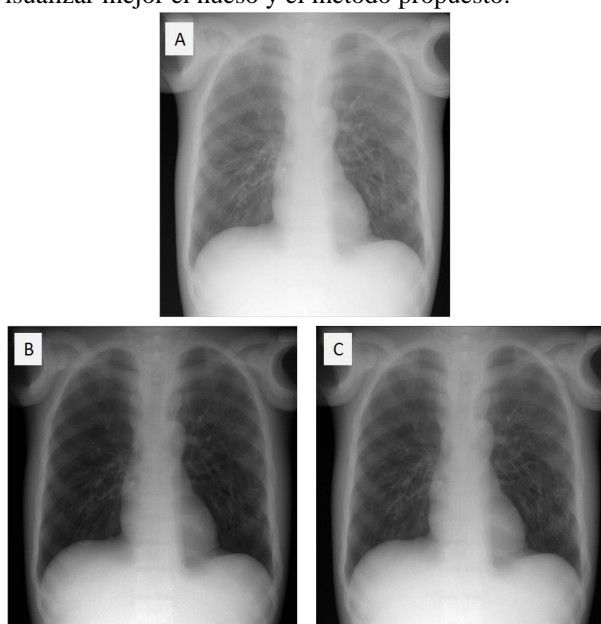


Figura 4. Imagen de tórax de maniquí (A) e imágenes resultado de aplicar GC (B) y el método propuesto (C)

Podemos apreciar que el aumento de contraste en columna con GC supone una disminución de contraste en pulmón mientras que con el algoritmo propuesto se consigue aumentar el contraste en ambas estructuras de forma simultánea. La siguiente Figura 5 muestra dos ROIs ampliadas en pulmón y de columna, donde se puede apreciar mejor este efecto.

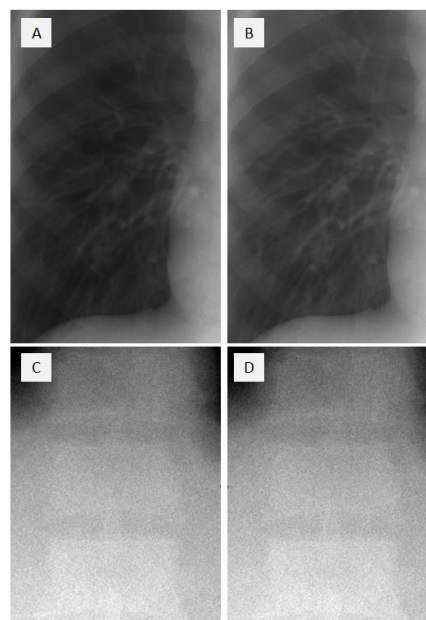


Figura 5. ROI pulmonar ampliada en imagen GC (A) e imagen con el método propuesto (B). ROI de columna ampliada en imagen GC (C) e imagen con el método propuesto (D)

En la Figura 6 se muestra la imagen original de tórax y abdomen de perro y los resultados de aplicar el algoritmo GC para visualizar mejor el tejido blando y el método propuesto.

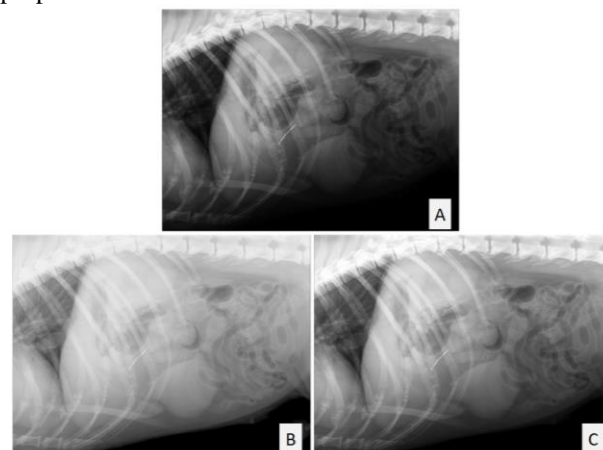


Figura 6. Imagen de tórax y abdomen de perro (A) e imágenes resultado de aplicar GC (B) y el método propuesto (C)

Ambos algoritmos mejoran el contraste en tejido blando pero el método propuesto mantiene un contraste adecuado entre el hueso y el tejido blando mientras que el algoritmo GC lo disminuye. Este efecto se puede apreciar mejor en la Figura 7, que muestra una ampliación de una ROI pulmonar-cervical y de una ROI abdominal.

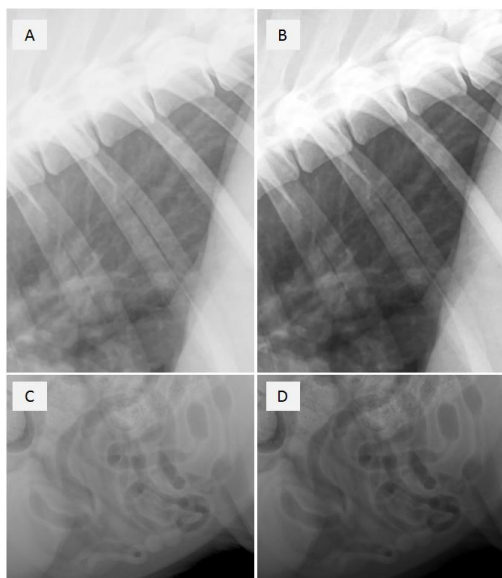


Figura 7. ROI pulmonar-cervical ampliada en imagen GC (A) e imagen con el método propuesto (B). ROI abdominal ampliada en imagen GC (C) e imagen con el método propuesto (D)

4. Discusión

En este trabajo proponemos un nuevo método de mejora simultánea de contraste en tejidos blando y denso para imágenes de rayos-X. Para ello se obtienen dos imágenes, cada una con buen contraste en uno de los tejidos, que se combinan linealmente. Los coeficientes de esta combinación se obtienen de forma automática maximizando la entropía.

El método permite maximizar la entropía global, calculando este parámetro para todos los píxeles de la imagen en conjunto, o la entropía local, seleccionando una ROI de interés de la imagen.

La principal ventaja del método propuesto es que permite la mejora de contraste tanto en tejido blando y hueso de forma simultánea, al contrario de lo que ocurre cuando se emplean métodos tradicionales como la GC. Esto es particularmente importante en caso de imágenes con tejidos de muy diferente densidad, como las de estudios de tórax, en las que tenemos al mismo tiempo tejido muy denso (columna) y tejido muy poco denso (pulmones).

5. Trabajo futuro

El algoritmo GC con el que se obtienen las subimágenes de tejido blando y denso puede sustituirse fácilmente por otras funciones que tengan el mismo objetivo, por ejemplo, las funciones sigmoidea o lineal por tramos. Sería conveniente analizar los resultados obtenidos con dichas funciones para encontrar aquella que consiga ofrecer el mayor contraste en ambos tipos de tejido simultáneamente.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad (proyectos DPI2016-79075-R) y por el Instituto de Salud Carlos III (DTS17/00122).

Referencias

- [1] R. E. W. R.C. Gonzalez, Digital Image Processing. New Jersey: Prentice-Hall, Inc., 2002.
- [2] Y. T. Kim, "Contrast enhancement using brightness preserving bi-histogram equalization," *Ieee Transactions on Consumer Electronics*, vol. 43, pp. 1-8, Feb 1997.
- [3] M. Abdullah-Al-Wadud, et al., "A dynamic histogram equalization for image contrast enhancement," *Ieee Transactions on Consumer Electronics*, vol. 53, pp. 593-600, May 2007.
- [4] S. M. Pizer, et al., "ADAPTIVE HISTOGRAM EQUALIZATION AND ITS VARIATIONS," *Computer Vision Graphics and Image Processing*, vol. 39, pp. 355-368, Sep 1987.
- [5] S. C. Huang, et al., "Efficient Contrast Enhancement Using Adaptive Gamma Correction With Weighting Distribution," *Ieee Transactions on Image Processing*, vol. 22, pp. 1032-1041, Mar 2013.
- [6] D. Zhang, et al., Histogram Partition based Gamma Correction for Image Contrast Enhancement. New York: Ieee, 2012.
- [7] G. Jiang, et al., "Image contrast enhancement with brightness preservation using an optimal gamma correction and weighted sum approach," *Journal of Modern Optics*, vol. 62, pp. 536-547, 2015.
- [8] S. H. Z. Edwin K. P. Chong An Introduction To Optimization, 2nd ed.: Wiley-Interscience, 2001.
- [9] B. A. Khellaf A., Dupoisot H., "Entropic Contrast Enhancement," *IEEE Trans Med Imaging*, vol. 10, pp. 589-92, 1991.

Estudio del efecto de la posición, polaridad y número de electrodos sobre el área de parestesia en la terapia de EME mediante el uso de un modelo 3D de médula espinal

C. Solanes¹, JL. Durá¹, J. De Andrés² J. Saiz¹

¹ Ci2B, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, carsogal@etsii.upv.es

² Unidad del Dolor, Hospital General de Valencia, Valencia, España, deandres_jos@gva.es

Resumen

La terapia de Estimulación de Médula Espinal (EME) se ha estado utilizando durante más de 40 años en el tratamiento del dolor crónico. Esta terapia consiste en estimular las grandes fibras nerviosas A β de los dermatomas correspondientes a las áreas donde el paciente siente dolor, para producir parestesia. Actualmente, todavía se desconoce el efecto de ciertos factores sobre el alcance del umbral de molestia. Dicho umbral limita la eficacia de la terapia, ya que impide aumentar el campo eléctrico para estimular las fibras nerviosas necesarias para paliar el dolor. Algunos de los factores que afectan al área de parestesia son: la posición del electrodo, la polaridad o el número de electrodos de estimulación. Con el objetivo de conocer mejor el efecto de estos factores sobre el área de parestesia, en este trabajo se ha elaborado un modelo 3D de médula espinal compuesto por: un modelo de conductor volumétrico de médula espinal realista, que simula la distribución del campo eléctrico; y un modelo de fibra nerviosa mielínica, que simula la activación de la misma, además de la propagación del potencial de acción. Los resultados de nuestras simulaciones indican que el mayor número de fibras nerviosas excitadas se produce cuando el electrodo se posiciona de forma central y próximo a la duramadre, cuando se utiliza la polaridad de doble cátodo protegido y cuando se utilizan dos electrodos de estimulación.

1. Introducción

Actualmente, el dolor crónico es la causa más frecuente de consulta médica [1]. Muchos de los tratamientos farmacológicos disponibles sólo logran ligeras mejoras. Afortunadamente, existen medidas no farmacológicas que permiten paliar el dolor crónico, como la terapia de Estimulación de Médula Espinal (EME), que pueden tener un impacto positivo en la calidad de vida de los pacientes [2].

La EME es una terapia reversible y mínimamente invasiva que se ha estado utilizando durante los últimos 50 años en el tratamiento del dolor crónico neuropático, como el síndrome doloroso complejo regional (CRPS, por sus siglas en inglés) o el síndrome de cirugía de espalda fallida (FBSS, por sus siglas en inglés) [3]. Todavía se desconocen en profundidad los mecanismos neurofisiológicos por los cuales la terapia de EME elimina la sensación de dolor en diferentes condiciones de dolor crónico. Pero, en 1965, Melzack y Wall propusieron una teoría que explica los principios físicos de la EME, conocida como la “teoría de la puerta control del dolor” [3]. La teoría de la puerta control del dolor explica que hay una puerta en la asta dorsal de la médula espinal que

determina la transmisión de la señal de la actividad neuronal del dolor. Esa “puerta” está abierta cuando hay una mayor actividad de entrada nociceptiva de las fibras pequeñas (fibras A δ y C) con respecto a la de las fibras grandes (A β). Pero la puerta se cierra cuando ocurre lo contrario. El efecto de la excitación de las grandes fibras A β se conoce como parestesia. Así, en base a esta teoría, seleccionando la activación de las fibras aferentes de diámetro elevado mediante estimulación eléctrica, se puede cerrar la puerta y reducir o eliminar las entradas dolorosas de la médula espinal [4].

Un dermatoma se puede definir como un área inervada por un solo nervio espinal o como un segmento de la médula espinal. Las grandes fibras A β se encuentran distribuidas en los cordones posteriores (DC, por sus siglas en inglés) de la médula espinal, procedentes de los correspondientes dermatomas [5]. Dichas fibras A β también se encuentran en las raíces dorsales (DR, por sus siglas en inglés) [3]. Pero, a pesar de que estimulando las fibras A β se consigue producir parestesia, ya sea estimulando las fibras de los DC como las de las DR, cuando se estimulan los DC se consigue ampliar la zona de parestesia a más dermatomas. Esto es debido a que, con la estimulación de las DR, solo se pueden activar las fibras de uno o dos dermatomas, mientras que, en los DC es posible activar todas las fibras de todos los dermatomas de un determinado nivel vertebral, en sentido caudal [3], [5], [6].

En el presente trabajo se ha elaborado un modelo 3D computacional de médula espinal realista que permite estudiar, de forma cuantitativa, el efecto de ciertos parámetros de estimulación (como la posición, polaridad o número de electrodos de estimulación) sobre la activación neuronal de la médula espinal, con el objetivo de optimizar la terapia de EME.

2. Metodología

2.1. Modelo de conductor volumétrico de médula espinal

Para generar un volumen conductor tridimensional de elementos finitos que represente la estructura anatómica de la médula espinal, se ha utilizado el software COMSOL Multiphysics (versión 5.3), con el módulo AC/DC (*Electric Currents*) para simular la distribución del campo eléctrico. Los tejidos más relevantes que se han considerado en el modelo son: la sustancia gris, la sustancia blanca, el líquido cefalorraquídeo (CSF), la

duramadre, la grasa y el hueso (ver Figura 1 (B)). Además, también se han tenido en cuenta las conductividades eléctricas de cada uno de los tejidos [7–10], así como la conductividad eléctrica de la interfase electrodo-tejido [10].

La geometría de la médula espinal varía en dirección rostro-caudal [11]. El modelo se ha generado a partir de la extrusión de la geometría transversal de la médula espinal del nivel vertebral T10, nivel donde se posicionan habitualmente los electrodos en los casos de dolor complejo por lumbociatalgia (ver Figura 1 (A)). La geometría del modelo se ha reproducido de manera realista, utilizando los valores medios de los parámetros geométricos de la médula espinal calculados por [11], a partir de imágenes de resonancia magnética (ver Figura 2).

Para evitar posibles efectos de borde, en las superficies más externas del modelo se ha establecido corriente nula (*electric insulation*) como condición de contorno. Por otra parte, como la estimulación simulada mediante los electrodos es por tensión, se ha impuesto en la superficie de los polos de los mismos la condición de contorno de terminal de voltaje.

Con el fin de evitar errores en la obtención de la solución en los bordes y estrechamientos, se ha utilizado una malla tetraédrica y adaptativa. El número total de nodos de la malla es de 900.000, con un tamaño de nodo de entre 0.17 y 2.4 mm.

Así, aplicando el método de elementos finitos, se ha calculado la distribución del potencial eléctrico ($V(x,y,z)$) como una solución aproximada a la ecuación de Laplace: $\nabla^2 V = 0$. La densidad de corriente ($J(x,y,z)$) se obtiene de aplicar la versión generalizada de la Ley de Ohm: $J = \sigma * E$; $E = -\nabla V$; siendo V el potencial eléctrico en un punto determinado del volumen, E el campo eléctrico, J la densidad de corriente y σ el tensor de conductividad eléctrica.

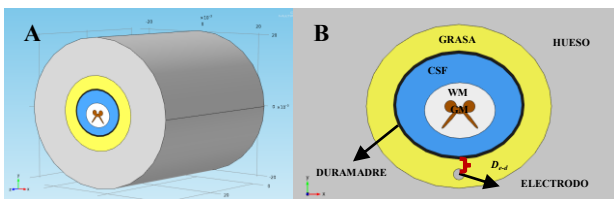


Figura 1. A) Modelo de conductor volumétrico realizado en COMSOL Multiphysics. Nivel vertebral T10. B) Corte transversal. D_{e-d}: distancia electrodo-duramadre. WM: sustancia blanca. GM: sustancia gris.

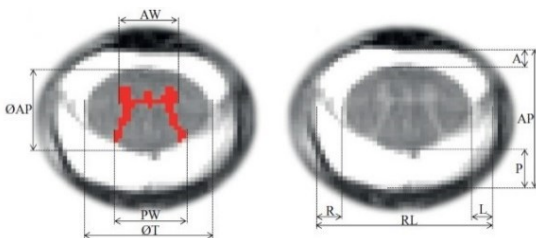


Figura 2. Dimensiones medidas en imágenes de RM con una resolución de 0.5x0.5 mm² [11].

2.2. Modelo de fibra nerviosa miélica

El modelo de fibra nerviosa que se ha utilizado y programado en MATLAB es el modelo de RMG (Richardson, McIntyre y Grill), por ser uno de los modelos más realistas que existe actualmente [12]. El modelo de RMG permite calcular el potencial al que se encuentra la membrana celular en cada nodo de Ranvier (V_n) pues, según la ecuación (1), la corriente de membrana en el nodo n es igual a la suma de las corrientes entrantes axiales, que es igual a la suma de las corrientes capacitivas e iónicas que atraviesan la membrana [13]:

$$C_{m,n} \frac{dV_n}{dt} + I_{ion,n} = G_{axial}(V_{n-1} - 2V_n + V_{n+1}) \quad (1)$$

Siendo n el nodo de Ranvier, C_m la capacidad de la membrana (μF), I_{ion} la suma total de las corrientes iónicas (mA) y G_{axial} la conductancia entre los centros de dos compartimentos adyacentes (mS). Así, a partir de la ecuación anterior y teniendo en cuenta el potencial eléctrico externo (V_e) en cada nodo, V_n se puede calcular a partir de la siguiente ecuación:

$$\frac{dV_n}{dt} = \frac{1}{C_{m,n}} [-I_{ion,n} + G_{axial}(V_{n-1} - 2V_n + V_{n+1} + V_{e,n-1} - 2V_{e,n} + V_{e,n+1})] \quad (2)$$

Mediante el modelo de conductor volumétrico se obtienen los valores V_e en cada uno de los nodos de Ranvier (n) considerados de una fibra nerviosa situada en la sustancia blanca de la médula espinal. Con estos valores, se resuelve la ecuación (2) en cada nodo de Ranvier y se obtiene la evolución temporal del potencial de membrana, conocido como potencial de acción. Así, por ejemplo, si se estimula una fibra nerviosa con un estímulo de pulso cuadrado de 300 μs de duración y 2.5V de amplitud, el potencial de acción que se obtiene y se propaga en cada nodo de Ranvier es el que se muestra en la Figura 3.

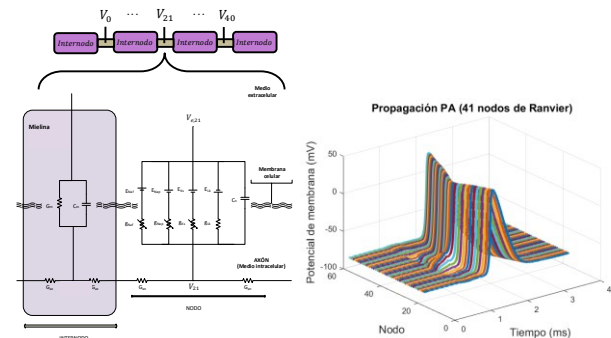


Figura 3. Esquema eléctrico del modelo de RMG (izquierda) y propagación del potencial de acción en 41 nodos de Ranvier (derecha) de una fibra nerviosa miélica.

2.3. Parámetros de evaluación

Para cuantificar el efecto del campo eléctrico sobre la estimulación neuronal, se ha calculado:

- Umbral de percepción (PT). Voltaje para activar las fibras nerviosas A β de 12.8 μm de diámetro.

- Área de activación (mm²). Máxima área de fibras nerviosas de 12.8 μm que se activan en los DC en el umbral de molestia (1.4*PT) [3].
- Profundidad de activación (μm). Máxima distancia longitudinal en la que se activan fibras nerviosas de 12.8 μm en los DC en el umbral de molestia (1.4*PT).
- Ratio de reclutamiento (R_{DC/DR}). Relación entre el voltaje para activar una fibra de 12.8 μm en los DC y una de 15 μm en las DR [5].

3. Resultados

3.1. Posición del electrodo

La posición del electrodo es un parámetro controlable durante su implante. Para evaluar el efecto de variar la posición del electrodo, se han calculado los distintos parámetros de evaluación con el electrodo situado en la capa de grasa, de forma central, a diferentes distancias de la médula espinal (D_{e-d}): a 0.75 mm desde el centro del electrodo a la duramadre, a 1.75 mm y a 2.75 mm (casi pegado totalmente al hueso).

Como se muestra en la Tabla 1, a menor D_{e-d}, menor umbral de percepción y mayor área y profundidad de activación se obtiene. Además, el R_{DC/DR} es menor, por lo que se excitarían antes las fibras de los DC.

D _{e-d} (mm)	PT (V)	Área de activación (mm ²)	Profundidad de activación (μm)	R _{DC/DR}
0.75	1	1.27	350	0.42
1.75	1.9	1.09	300	0.48
2.75	3.4	1.15	300	0.56

Tabla 1. Parámetros de evaluación en función de la posición del electrodo dentro del espacio epidural.

3.2. Polaridad del electrodo

La polaridad del electrodo es uno de los parámetros más complejos de determinar debido al elevado número de combinaciones que se pueden utilizar. En la actualidad, el responsable de la programación decide, de forma empírica, la polaridad del electrodo, en base a los conocimientos que tiene del efecto del campo eléctrico sobre la activación de fibras nerviosas.

En este apartado se han considerado las cuatro polaridades más comunes que se utilizan con un electrodo de estimulación en la terapia de EME:

- Bipolar 1 (BP1): se usan dos polos contiguos, uno es el cátodo (negativo) y el otro el ánodo (positivo), separados por una distancia de 7 mm entre centros.
- Bipolar 2 (BP2): se usan dos polos. Uno es el cátodo y el otro el ánodo, separados por una distancia de 21 mm entre centros.
- Cátodo protegido (CP): se usan tres polos contiguos. El del centro es el cátodo y el resto son ánodos.
- Doble cátodo protegido (DCP): se usan cuatro polos contiguos. Los dos interiores son cátodos y en los extremos se encuentran los ánodos.

En cuanto a los resultados obtenidos (ver Tabla 2), la polaridad que permite una mayor área y profundidad de activación de las fibras nerviosas en los DC es la DCP.

Sin embargo, la polaridad CP es la que presenta un menor R_{DC/DR}.

Polaridad electrodo	PT (V)	Área de activación (mm ²)	Profundidad de activación (μm)	R _{DC/DR}
- +	1.9	1.09	300	0.48
+ -	2.4	0.84	250	0.89
+ - +	1.6	1.09	300	0.21
+ - - +	1.7	1.76	450	0.57

Tabla 2. Parámetros de evaluación en función de la polaridad del electrodo (BP1, BP2, CP y DCP). D_{e-d}: 1.75 mm.

3.3. Estimulación con dos electrodos

Como el uso de dos electrodos es habitual en la práctica clínica, se ha considerado importante analizar el área de parestesia al utilizar dos electrodos.

En este caso se ha comparado el uso de la polaridad BP1 y CP en un electrodo con respecto a dos. Los resultados que se han obtenido se muestran en la Tabla 3. En general, se aprecia que el uso de dos electrodos de estimulación permite ampliar el área y la profundidad de activación, aunque los umbrales de percepción son más elevados. En cuanto al R_{DC/DR}, tanto en uno como en dos electrodos, la polaridad CP es la que presenta los valores más bajos, suponiendo la activación preferente de las fibras de los DC.

En la Figura 4 se muestra de forma visual la segunda derivada espacial del potencial eléctrico al estimular con dos electrodos con sus correspondientes áreas de activación. Como se puede observar, la polaridad BP1 produce una estimulación más extendida (A), mientras que la CP es más lateral y más profunda (B).

Polaridad electrodos	PT (V)	Área de activación (mm ²)	Profundidad de activación (μm)	R _{DC/DR}
BP1 (1 elec.)	0.9	1.25	350	0.43
CP (1 elec.)	0.7	0.93	300	0.2
BP1 (2 elec.)	2.3	3	650	0.3
CP (2 elec.)	2.5	2.7	750	0.26

Tabla 3. Parámetros de evaluación según la polaridad con uno y dos electrodos de estimulación. D_{e-d}: 0.75 mm. Distancia entre los centros de los dos electrodos: 2.5 mm.

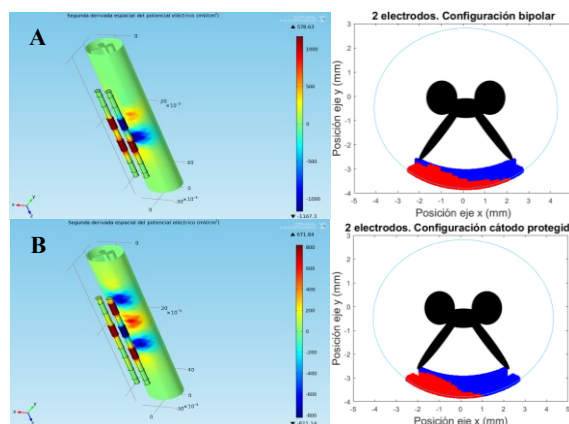


Figura 4. Segunda derivada espacial del potencial eléctrico en la superficie de la médula espinal y área de activación al estimular con dos electrodos en polaridad: BP1 (A) y CP (B).

4. Discusión y conclusiones

En este trabajo se ha estudiado el efecto de diversos factores sobre el área de parestesia en la terapia de EME mediante el uso de un modelo 3D computacional de médula espinal realista y actual.

El primer parámetro que se ha analizado es el de la posición lateral del electrodo. En este estudio se observa que, cuanto más cerca está el electrodo de la médula espinal, menor es PT, mayor es el área y la profundidad de activación y menor es el $R_{DC/DR}$, por lo que se activan preferentemente las fibras nerviosas de los DC.

Otro parámetro importante es la polaridad de los electrodos. En este trabajo se han comparado cuatro polaridades: BP1, BP2, CP y DCP. Los resultados muestran que, la configuración DCP es la que permite un mayor área y profundidad de activación. Pero el $R_{DR/DC}$ es más alto, por lo que se podrían excitar antes las fibras de las DR y la parestesia se reduciría a uno o dos dermatomas. En cambio, la configuración CP, aunque presenta una menor área y profundidad de activación, el $R_{DC/DR}$ es mucho menor, por lo que se excitarían antes las fibras de los DC y se podría ampliar el área de parestesia a más dermatomas. Por tanto, aunque ambas polaridades son favorables, la DCP sería una de las configuraciones que permitiría mejorar la terapia de EME, pues es la que permite mayor área y profundidad de activación, aunque esto último depende fuertemente del caso clínico a tratar.

Por último, se ha comparado la estimulación mediante un electrodo frente a dos. En este caso, la diferencia es notable, pues, mientras que la estimulación con dos electrodos permite una mayor área (de hasta 3 mm² frente a 1 mm² con un electrodo) y profundidad de activación de las fibras nerviosas (de hasta 750 μm frente a los 350 μm con un electrodo), la estimulación con un electrodo presenta unos umbrales de estimulación más bajos. Además, la estimulación con dos electrodos produce una activación más lateral que con un electrodo, lo cual puede ser interesante para estimular los dermatomas de un lado u otro de la médula, según dónde presente sensación de dolor el paciente. Comparando las configuraciones utilizadas con dos electrodos (BP1 y CP), la segunda presenta una profundidad de activación y un $R_{DC/DR}$ más altos, mientras que la BP1 tiene un área de activación más elevada y unos umbrales de estimulación más bajos. El uso de una polaridad u otra, o de un electrodo o dos va a depender, fundamentalmente, del área de estimulación buscada.

En resumen, los resultados muestran las diferentes estrategias que se pueden seguir para alcanzar una mayor área de parestesia en la terapia de EME.

Finalmente, en este trabajo se ha elaborado un modelo 3D computacional de médula espinal que permite realizar multitud de estudios con el fin de, no sólo obtener resultados, sino de detectar posibles aportaciones futuras que podrían mejorar la terapia de EME.

Referencias

- [1] Pedrajas JM y Molino AM, “Bases neuromédicas del dolor,” *Clinica y Salud*, vol. 19, no. 19, pp. 277–293, 2008.
- [2] Torralba A, Miquel A, y Darba J, “Situación actual del dolor crónico en España: iniciativa Pain Proposal,” *Rev Soc Esp Dolor*, vol. 21, no. 1, pp. 16–22, 2014.
- [3] Molnar G y Barolat G, “Principles of Cord Activation During Spinal Cord Stimulation,” vol. 2013, pp. 12–21, 2014.
- [4] Epstein LJ y Palmieri M, “Managing Chronic Pain With Spinal Cord Stimulation,” *Mt. Sinai J. Med. A J. Transl. Pers. Med.*, vol. 79, no. 1, pp. 123–132, Jan. 2012.
- [5] Manola L, Holsheimer J y Veltink P, “Technical performance of percutaneous leads for spinal cord stimulation: A modeling study,” *Neuromodulation*, vol. 8, no. 2, pp. 88–99, 2005.
- [6] Holsheimer J, “Which neuronal elements are activated directly by spinal cord stimulation,” *Neuromodulation*, vol. 5, no. 1, pp. 25–31, 2002.
- [7] Arle JE, Carlson KW, Mei L y Shils JL, “Modeling Effects of Scar on Patterns of Dorsal Column Stimulation,” *Neuromodulation*, vol. 17, pp. 320–333, 2014.
- [8] Ladenbauer J, Minassian K, Hofstoetter US, Dimitrijevic MR y Rattay F, “Stimulation of the Human Lumbar Spinal Cord With Implanted and Surface Electrodes: A Computer Simulation Study,” *IEEE Trans. Neural Syst. Rehabil. Eng.*, vol. 18, no. 6, pp. 637–645, 2010.
- [9] Oakley J y Prager JP, “Spinal cord stimulation: Mechanisms of action,” *Spine (Phila. Pa. 1976)*, vol. 27, no. 22, pp. 2574–2583, 2002.
- [10] McIntyre CC, Mori S, Sherman DL, Thakor NV y Vitek JL, “Electric field and stimulating influence generated by deep brain stimulation of the subthalamic nucleus,” *Clin. Neurophysiol.*, vol. 115, pp. 589–595, 2004.
- [11] Fradet L, Arnoux P, Ranjeva J y Petit Y, “Morphometrics of the Entire Human Spinal,” *Spine (Phila. Pa. 1976)*, vol. 39, no. 4, pp. E262–E269, 2014.
- [12] McIntyre CC *et al.*, “Modeling the Excitability of Mammalian Nerve Fibers: Influence of Afterpotentials on the Recovery Cycle Modeling the Excitability of Mammalian Nerve Fibers: Influence of Afterpotentials on the Recovery Cycle,” *J. Neurophysiol.*, pp. 995–1006, 2002.
- [13] Richardson AG, McIntyre CC y Grill WM, “Modeling the Effects of Electric Fields on Nerve Fibers: Determination of Excitation Thresholds,” *Med. Biol. Eng. Comput.*, pp. 438–446, 2000.

Competición alumnos de GIB

Jueves, 30 de Noviembre

Electroporación como Método para Fusionar Células de Ovario de Hámster Chino y Vesículas Poliméricas Unilamelares Gigantes

L. Delgado Rojo ¹, T. Batista Napotnik ², D. Miklavčič ³

¹ Ingeniería Biomédica, Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España {laauradelgado@gmail.com} laura.delgado.rojo@alumnos.upm.es

^{2,3} Laboratorio de Biocibernética, Escuela de Ingeniería Eléctrica, Universidad de Ljubljana, Ljubljana, Eslovenia, tina.batistanapotnik@fe.uni-lj.si, damijan.miklavcic@fe.uni-lj.si

Resumen

Los procesos de fusión en sistemas biológicos suceden de forma específica y están facilitados por proteínas. Sin embargo, mediante la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje sobre estructuras membranosas, fenómeno conocido como electroporación, es posible inducir la fusión no específica entre moléculas. Para ello se requieren dos condiciones: primera, un contacto adyacente que posibilite la interacción entre membranas; y segunda, la consecución del estado fusogénico. Éste estado, en el que las membranas están electroporadas tras la aplicación de los pulsos eléctricos, se ajusta de forma específica para cada tipo de molécula a fusionar, ya sea de naturaleza biológica o artificial, variando los parámetros amplitud, duración, número y frecuencia de los pulsos.

Con este estudio, tratamos de explicar el mecanismo de electrofusión entre células de ovario de hámster chino (CHO) y vesículas poliméricas unilamelares gigantes, o polimerosomas, que en un futuro estarán funcionalizadas con proteínas de membrana. Este procedimiento permitirá la inserción de receptores de membrana, sintetizados in vitro, directamente en la bicapa celular.

Finalmente, concluimos que los ratios de fusión y viabilidad obtenidos entre células CHO son significativos y comparables con los de la línea celular B-16, donde se utilizaron parámetros eléctricos más bajos. Así, la línea celular CHO es más adecuada para la fusión con polimerosomas, los cuales requieren elevados parámetros eléctricos debido a la rigidez de su membrana. También se propone estudiar otros métodos para mejorar el contacto entre células y polimerosomas, y un procedimiento sistemático que permita la adecuada identificación de los híbridos.

1. Introducción

La electroporación es el fenómeno que ocurre en la membrana celular tras la aplicación de pulsos eléctricos de alto voltaje [1]. Debido a las propiedades dieléctricas de la bicapa lipídica, la célula puede considerarse una esfera aislante rodeada por un electrolito, y por tanto, la aplicación externa de pulsos eléctricos provoca un aumento transitorio en su potencial de reposo (ver *Ec.1*) [2].

$$V_{ind}(t) = fER \cos\theta \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau}}\right) \quad Ec. 1$$

con V_{ind} potencial inducido en una célula esférica, f factor adimensional función de las propiedades eléctricas y

geométricas de la célula y el medio, E intensidad de campo eléctrico homogéneo, R radio celular, θ ángulo entre el vector normal a la membrana y la dirección del campo eléctrico, y τ constante de tiempo de la membrana ($f = 1.5$ y $\tau = 0.5 \mu s$ en condiciones fisiológicas).

Cuando el potencial de membrana total, resultado de la superposición de la componente externa inducida a la componente basal, excede un valor umbral, la membrana sufre una ruptura eléctrica, lo que induce la formación de pequeños poros acuosos hidrofílicos en la bicapa [2]. Así, su conductividad aumenta de forma transitoria, y moléculas naturalmente impermeables pueden atravesar la membrana e introducirse en el citoplasma celular. Este mecanismo se utiliza para la inserción de fármacos quimioterapéuticos, proteínas, oligonucleóticos o ADN [1,2].

Adicionalmente, si entre células en estado electroporado se establece contacto adyacente, sus membranas interaccionan de manera que se forma un poro de fusión, el cual evoluciona hacia un estado de fusión completa (ver *Figura 1*) [2,4]. El método más utilizado para inducir el contacto es la dielectroforesis, en el que mediante la aplicación externa de una señal alterna sinusoidal, las células se alinean en cadena en la dirección del campo aplicado, como resultado de interacciones dipolo-dipolo (ver *Figura 3c*) [5].

De este modo, la electrofusión posibilita la inserción de moléculas exógenas en la membrana celular, imitando el mecanismo natural de exocitosis [4,6]. Sin embargo, a diferencia de en éste, donde la fusión ocurre de forma específica facilitada por proteínas especializadas, en la electrofusión ocurre de forma no específica. Además, la electroporación se puede modular para cada tipo de molécula a fusionar mediante la variación de los parámetros eléctricos de los pulsos: amplitud, duración, número y frecuencia [7]. La amplitud y el número de pulsos son directamente proporcionales al aumento de la permeabilidad, i.e. electroporación [8]. Respecto a la duración, la fusión se ha conseguido exitosamente con magnitudes de mili-, micro- y nano-segundos, sin embargo, éstos últimos han reportado eliminar la dependencia de la electroporación con el tamaño celular, haciéndolos más adecuados (ver *Ec.1*) [9]. Y por último, las células son aparentemente más susceptibles a los

pulsos cuando se disminuye la frecuencia de repetición [2]. En última instancia, los parámetros han de elegirse de forma que se mantenga la viabilidad de las células, i.e. la electroporación sea reversible [10].

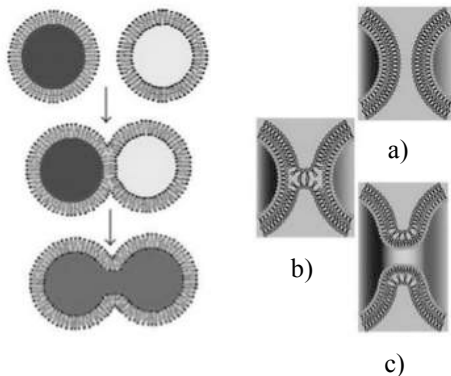


Figura 1. Izquierda: proceso de electrofusión en el que son necesarias dos condiciones: primera, las moléculas tienen que estar electroporadas o en 'estado fusogénico', y segunda, tienen que estar en contacto adyacente. Derecha: a) membranas electroporadas en contacto adyacente cuya interacción provoca b) un cuello de fusión que evoluciona a c) poro de fusión. [6]

Por tanto, la electroporación es una atractiva alternativa a la transfección génica. Hará posible la introducción de proteínas de membrana, sintetizadas *in vitro* artificialmente, directamente en la membrana celular, evitando la carga metabólica de la manipulación genética. Las proteínas de membrana son sensores (o receptores) y actuadores de las señales del entorno celular, y su ausencia o incorrecto funcionamiento están relacionados con la aparición de enfermedades como la diabetes, el Alzheimer o el Parkinson, y la proliferación de células cancerígenas o metástasis [10,11].

Mediante la electrofusión se han fusionado células entre sí, y células con vesículas lipídicas (o liposomas) [9,12]. Sin embargo, las plataformas sintéticas de naturaleza polimérica, o polimerosomas, plantean un amplio campo de estudio acerca de su utilización como vesículas transportadoras, ya que es posible tunear todos los parámetros que conforman sus propiedades mecánicas y eléctricas, y además es posible sintetizarlas con proteínas insertadas, sintetizadas *in vitro* [13].

2. Objetivos

En este trabajo proponemos la electroporación como método para fusionar células de ovario de hámster chino y vesículas poliméricas unilamelares gigantes, que potencialmente portarán proteínas de membrana.

En primer lugar, establecimos un protocolo eléctrico efectivo y reproducible con el que las células exhibieron una tasa de fusión significativa permaneciendo viables. Para ello, variamos los parámetros amplitud y número de los pulsos eléctricos. Además, estudiamos el efecto de la duración de la señal alterna aplicada, del método dielectroforesis, para inducir el contacto. De esta manera, sugeríamos que un incremento en el tiempo de contacto provocaría un aumento en la tasa de fusión. Por último, tras determinar las condiciones adecuadas de trabajo para las células, tratamos de fusionarlas con vesículas

poliméricas no funcionalizadas sintetizadas *in vitro*, i.e. polimerosomas, los cuales han reportado recientemente exitosa electroporación y no tener efectos tóxicos sobre las células [13].

3. Materiales y Métodos

3.1. Materiales

3.1.1 Células y Polimerosomas

Las células de ovario de Hámster chino CHO-K1 (*CHO*, del inglés *Chinese Hamster Ovary*) se cultivaron en medio F-12 HAM. En todos los experimentos, antes de la aplicación del protocolo eléctrico, las células se colocaron en buffer hipotónico, para provocar por ósmosis un incremento en su tamaño y mejorar el contacto entre ellas.

Los polimerosomas (PS) son vesículas unilamelares gigantes de naturaleza polimérica, sintetizados mediante electroformación en la Universidad de Recursos Naturales y Ciencias de la Vida de Viena, Austria [13]. Están compuestos de copolímeros amfifílicos en bloque (poly(ethylene oxide)-b-poly(butadiene)), con 13 bloques hidrofílicos PEO y 22 bloques hidrofóbicos PBD (OB₁₃₋₂₂). Su medio interno tiene mayor conductividad que el medio hipotónico externo en el que se colocaron para la aplicación del protocolo eléctrico (con valores 925 y 131.9 $\mu\text{S}/\text{cm}$, respectivamente). Con esta diferencia en conductividades se busca mejorar la alineación dielectroforética entre las vesículas.

3.1.2 Equipo Electrónico

El equipo electrónico para la aplicación del protocolo eléctrico está compuesto por dos bloques. El primero consta de un generador de nano-pulsos y un osciloscopio, para la aplicación de los pulsos eléctricos de alto voltaje, que electroporarán las células. El segundo está compuesto por un generador de funciones y un osciloscopio, para crear el contacto entre células mediante la aplicación de la señal dielectroforética (una senoide de frecuencia 20 MHz y 10 V_{pp}). Ambos bloques están acoplados utilizando un relé, mediante un controlador de conmutación, accionado manualmente con un pulsador. Adicionalmente, la configuración está conectada a un microscopio invertido, cámara digital y ordenador, para la obtención de imágenes. En la platina del microscopio se coloca la cámara de fusión, contenedora de los electrodos de cables paralelos con 0.2 mm de separación, sobre la cual se coloca la solución a electroporar.

3.2. Métodos

3.2.1 Protocolo Eléctrico

El protocolo eléctrico consistió en aplicar a las muestras tres señales consecutivas por medio del equipo electrónico: i) señal sinusoidal para lograr el contacto entre moléculas, ii) nano-pulsos eléctricos de alto voltaje para electroporar las moléculas en contacto, iii) señal sinusoidal para mantener el contacto entre las moléculas electroporadas, y facilitar así la fusión.

Se llevaron a cabo dos conjuntos de experimentos de idéntica manera. En el primero, las señales dielectroforéticas i y iii tuvieron duración 30 s; en el

segundo, 60 s. Cada experimento se repitió tres veces, en días separados.

Los parámetros de los pulsos fueron: frecuencia de repetición 100 KHz y duración 150 ns, ambos constantes en todos los experimentos. Para cada valor de número de pulsos: 10, 50 y 100, las amplitudes se variaron a 180, 240 y 340 V.

3.2.2 Microscopía y Presentación de Resultados: Ratio de Fusión y de Viabilidad

Los núcleos de las células se tiñeron al comienzo de los experimentos con marcador fluorescente Hoechst para evaluar la tasa de fusión, y diez minutos después del protocolo eléctrico con Ioduro de Propidio (IP) para evaluar la viabilidad. Las membranas de los PS están marcadas con Rodamina. Las imágenes se obtuvieron con una cámara digital Visicam 1280 mediante un microscopio fluorescente de inversión Axiovert 200, y software MetaMorph 7.7.

Las imágenes fluorescentes y de contraste de fase se analizaron utilizando el software ImageJ. Los ratios de fusión (RF) y de viabilidad se cuantificaron en porcentaje de acuerdo a *Ec.2* y *Ec.3*, respectivamente.

$$RF = \frac{n^{\circ} \text{ de células polinucleadas}}{n^{\circ} \text{ total de células}} \quad \text{Ec. 2}$$

$$\text{Células viables} = 1 - \frac{n^{\circ} \text{ de células marcadas con IP}}{n^{\circ} \text{ total de células}} \quad \text{Ec. 3}$$

Los resultados se muestran como media \pm desviación estándar. Los asteriscos [*] muestran diferencias estadísticamente significativas con control 1, en el que no se aplicó el protocolo eléctrico. En control 2, sólo se aplicaron las señales dielectroforéticas.

4. Resultados

Fusión y viabilidad de células CHO

En primer lugar, buscamos los parámetros eléctricos de los pulsos que provocaran los mayores porcentajes de fusión entre células CHO. La fusión se calculó como se muestra en *Ec 2*, 8 y 15 minutos después de la aplicación

de los pulsos, para dos duraciones de señal dielectroforética. Puesto que los tests estadísticos mostraron que no hay diferencias entre los resultados a 8 y 15 minutos, asumimos que la máxima fusión se obtiene a los 8 minutos. La viabilidad se cuantificó 15 minutos después. Los resultados se muestran en la *Figura 2*. Los máximos porcentajes de fusión fueron 8.4 ± 2.6 % (100 pulsos, 12 kV/cm, y 30 s DEP) y 8 ± 3.4 % (100 pulsos, 17 kV/cm, y 30 s DEP). La viabilidad en todos los casos fue superior al 96 %.

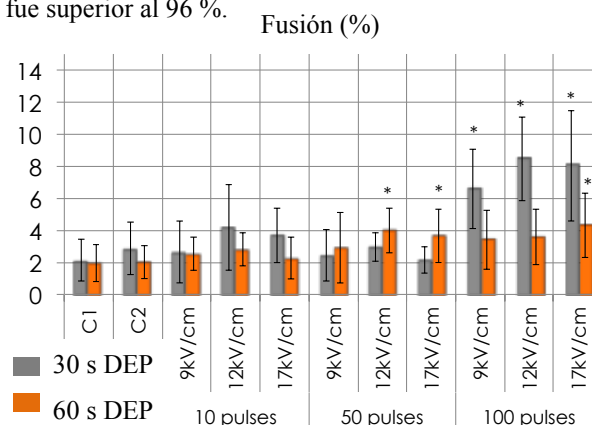


Figura 2. Porcentajes de fusión para dos duraciones de señal dielectroforética (DEP): 30 y 60 s, 8 minutos después de la aplicación del protocolo eléctrico para distintos valores de número de pulsos (10, 50 y 100), e intensidad de campo eléctrico (9, 12 y 17 kV/cm).

Fusión entre células CHO y PS

No observamos casos evidentes de fusión entre células CHO y PS, ya que con el microscopio de inversión no distinguimos si se trataban de híbridos, o si las especies estaban en distintos planos espaciales. Se utilizaron los parámetros eléctricos más elevados (100 pulsos y 17 kV/cm), con los que las células mostraron significativos ratios de fusión, y se mantuvieron viables. En la *Figura 3a* y *3b* se muestra un ejemplo de posible fusión entre una célula y un polimerosoma.

5. Discusión

a) Fusión y viabilidad de células CHO

Obtuvimos fusión entre células CHO, y los valores más

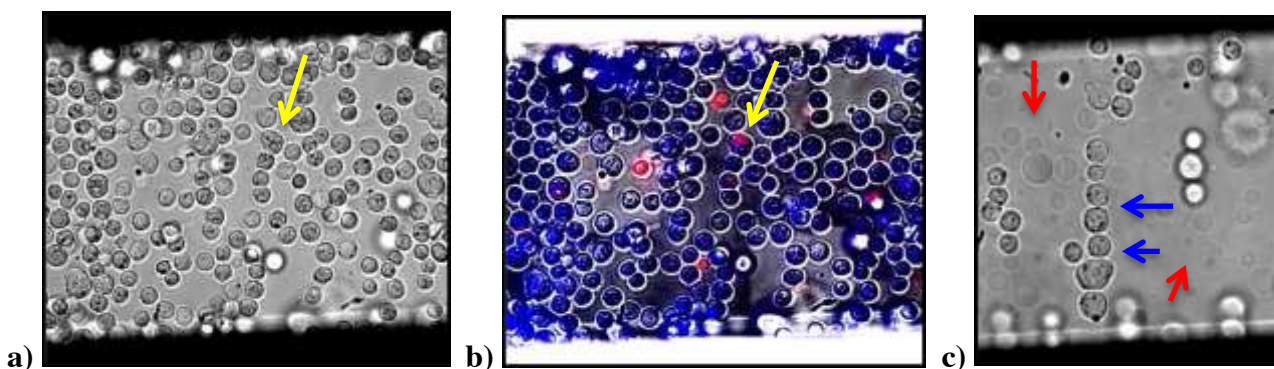


Figura 3. Imágenes de a) contraste de fase y b) fluorescencia, donde los núcleos de las células están marcados en azul con Hoechst, y las membranas de los PS en rojo con Rodamina. La flecha amarilla señala un posible caso de fusión donde hay ambas fluorescencias en una célula. c) Células y PS durante la aplicación de la señal dielectroforética, tras la cual las células se alinean en cadena pero los PS se mantienen dispersos. Las células tienen un contorno más oscuro y en ellas se distinguen los orgánulos internos (flechas azules). Los PS son más claros y traslúcidos (flechas rojas).

elevados resultaron con 100 pulsos (ver *Figura 2*). Para analizar correctamente los resultados hay que considerar el valor basal de polinucleación de las células, comparando los grupos experimentales con los controles. El máximo porcentaje fue 8.4 ± 2.6 %, 8 minutos después de 100 pulsos, de 150 ns, con 12 kV/cm y 30 s DEP. Los resultados son comparables a los obtenidos entre células B-16, para las cuales el máximo porcentaje fue 8.7 ± 1.5 %, 8 minutos después de 20 pulsos, de 100 ns, con 9 kV/cm y 30 s DEP [9]. Por tanto, las células CHO requieren parámetros eléctricos más elevados para reportar tasas de fusión similares a las de las células B-16, lo que las hace más apropiadas para la fusión con PS, cuya rigidez de membrana requiere valores eléctricos más elevados para su electroporación [13]. Además, la elevada viabilidad, superior al 96%, sugiere que es posible aplicar valores más elevados a las células para evaluar un posible incremento en el porcentaje de fusión.

Comparando los resultados mostrados en la *Figura 2* de los experimentos con diferentes duraciones de señal DEP (30 y 60 s), se concluye que un contacto prolongado entre las células impide la fusión. Esto puede deberse a que, mantenidas en el tiempo, las fuerzas repulsivas resultantes de la interacción entre membranas en contacto aumentan, requiriendo mayor energía posterior para electroporar las células, lo que requeriría aumentar los parámetros eléctricos de los pulsos. Un estudio de la tasa de electroporación clarificaría esta hipótesis.

b) Fusión entre células CHO y PS

En los experimentos observamos numerosos posibles casos de fusión. Un microscopio confocal habría permitido distinguir si las especies estaban fusionadas o en diferentes planos espaciales. En cualquier caso, sobre el comportamiento fusogénico de las vesículas poliméricas hay poco conocimiento, y surge la cuestión de cuál debería ser la apariencia teórica de un híbrido, y la manera de identificarlos con fluorescencia. Además, sería interesante considerar si la fusión entre células y PS se vería favorecida tras la funcionalización de los últimos, ya que disminuiría la tensión de su membrana, y en cualquier caso, las proteínas serán un factor condicionante en las interacciones en la fusión. También observamos que la velocidad electroforética de las vesículas poliméricas es menor que la de las células, y por tanto el contacto se induce mayoritariamente entre las últimas. A este respecto, se propone el estudio de métodos mecánicos para lograr el contacto, como centrifugación, sedimentación o succión en filtros.

6. Conclusiones y Trabajo Futuro

El mecanismo de fusión entre células CHO y PS no se comprende todavía. Los resultados sugieren que la línea celular CHO es más apropiada que la B-16 para fusión con PS, ya que requieren valores eléctricos más elevados para su fusión y además se mantienen viables. Se propone, por tanto, el estudio de la fusión de células CHO con valores eléctricos más elevados. Además, debido a que un incremento en el tiempo de contacto utilizando dielectroforesis, causa un decremento en el porcentaje de fusión, se propone el estudio de otros métodos para

inducir el contacto, para eliminar las posibles interacciones adversas de la señal alterna, y para además mejorar el contacto con los PS. Futuros estudios deben también enfocarse a la caracterización de las condiciones de trabajo para los PS, como aquí se ha propuesto y realizado con las células.

Así pues, la falta de conocimiento debe incentivar y motivar el desarrollo de futuros estudios que revelen las incógnitas planteadas.

Agradecimientos

A los comités organizadores del CASEIB por la oportunidad concedida, así como a Elena Hernando, responsable de la gestión de trabajos de la Escuela Técnica de Ingenieros de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid. Este trabajo ha sido realizado en el Laboratorio de Biocibernética, en la Escuela de Ingeniería Eléctrica, Universidad de Ljubljana, Eslovenia, gracias al programa de intercambios del marco europeo Erasmus, ofrecido por la Universidad Politécnica de Madrid.

Referencias

- [1] Kotnik T, Kramar P, Pucihar G, Miklavčič D, Tarek M. Cell membrane electroporation- Part 1: The phenomenon. *IEEE Elec Ins Mag*, vol 28, sup 5, n 5, 2012 pp 14-23 (ISSN: 0883-7554)
- [2] Rems L, Miklavčič D. Tutorial: Electroporation of cells in complex materials and tissue. *J Appl Phys*, vol 119, sup 20, n 20, 2016, pp 1-21 (ISSN:0021-8979)
- [3] Teissié J, Ramos C. Correlation between Electric Field Pulse Induced Long-Lived Permeabilization and Fusogenicity in Cell Membranes. *Biophys J*, vol 74, sup 4, n 4, 1998, pp 1889-1898 (ISSN: 0006-3495)
- [4] Ramos C, Teissié J. Electrofusion: A biophysical modification of cell membrane and a mechanism in exocytosis. *Biochimie*, vol 82, sup 5, 2000, pp 511-518 (ISSN: 0300-9084)
- [5] Pethig R. Review Article-Dielectrophoresis: Status of the theory, technology, and applications. *Biomicrofluidics*, vol 4, sup 2, n 2, 2010, pp 2811:1-35 (ISSN: 1932-1058)
- [6] Mondal RS, Sarkar M. Membrane fusion Induced by Small Molecules and Ions. *Hind Pub Corp J Lip*, vol 2011, 2011, pp 528784:1-14 (PMID:528784)
- [7] Pucihar G, Krmelj J, Reberšek M, Napotnik TB, Miklavčič D. Equivalent Pulse Parameters for Electroporation. *IEEE TBME*, vol 58, sup 11, 2011, pp 3279-3288 (ISSN: 0018-9294)
- [8] Miklavčič D, Maček-Lebar A. Cell electroporability to small molecules in vitro: control by pulse parameters. *Radiol Oncol*, vol 35, sup 3, n 3, 1992, pp 193-202 (ISSN: 1318-2099)
- [9] Rems L, et al. Cell electrofusion using nanosecond electric pulses. *Sci Rep*, vol 3, 2013, pp 3382:1-10 (ISSN: 2045-2322)
- [10] Yarmush ML, Golberg A, Serša G, Kotnik T, Miklavčič D. Electroporation-based technologies for medicine: principles, applications, and challenges. *Annu Rev Biomed Eng*, vol 16, 2014, pp 295-320 (ISSN: 1545-4274)
- [11] Overington JP, Al-Lazikani B, Hopkins A. How many drug targets are there? *Nat Rev Drug Discov*, vol 5, 2006, pp 993-996 (ISSN: 1474-1776)
- [12] Shirakashi R, Reuss R, Schulz A, Sukhorukov V, Zimmermann U. Effects of a Pulse Electric Field on Electrofusion of Giant Unilamellar Vesicle (GUV)-Jurkat Cell. *J Therm Sci Tech*, vol 7, sup 4, n 4, 2012, pp 589-602 (ISSN: 1884-8346)
- [13] Napotnik TB, Bello G, Sinner EK, Miklavčič D. The Effect of Nanosecond, High-Voltage Electric Pulses on the Shape and Permeability of Polyerosome GUVs. *J Memb Biol*, vol July, 2017, pp 1- 13 (ISSN: 1432-1424)

Integración de microestructuras en dispositivos microfluídicos para la optimización de la interacción tratamientos-monocapa celular en estudios citotóxicos

J. Zabalo Carrere¹, O. Mitxelena Iribarren²

¹ Tecnun, Universidad de Navarra (UNAV), Donostia, a904048@alumni.tecnun.es

² CEIT y Tecnun, Universidad de Navarra, Donostia, omitxelena@ceit.es

Resumen

Las nanopartículas lipídicas cargadas con medicamento son una alternativa selectiva y eficaz a la quimioterapia. Las técnicas de testeo *in vitro* actuales para su validación son de carácter estático, por lo que es difícil demostrar si las células cultivadas se ven afectadas por el medicamento o mueren por asfixia. Una solución a este problema es el uso de dispositivos microfluídicos. Sin embargo, dado el carácter laminar que adquiere el flujo en dichos dispositivos, solo un número reducido de nanopartículas contacta con las células cultivadas en ellos. Por eso, es necesario alterar este comportamiento y generar un mezclado. Este trabajo analiza el efecto de diversas microestructuras embebidas en el flujo laminar del dispositivo mediante tres experimentos. Los resultados de este estudio demuestran que las microestructuras más estrechas de entre las diseñadas aumentan el mezclado del flujo.

1. Introducción

La quimioterapia afecta a las células del organismo en fase de crecimiento. Por tanto, en el caso de los niños, además de afectar a las células cancerígenas, también puede afectar a otras células sanas en fase de crecimiento. Por eso, los niños son un sector vulnerable a este tratamiento [1].

Una posible alternativa a este problema son las nanopartículas lipídicas con medicamento, las cuales se unen solamente a las células cancerígenas para después insertar el medicamento dentro de ellas. Uno de los pasos para la validación de estos medicamentos es el testeo *in vitro*. Las técnicas *in vitro* son, en general, de carácter estático. Las células de osteosarcoma se cultivan en un Petri, para después insertar en él las nanopartículas con medicamento. Al paso de unos días, es difícil saber si las células mueren a causa del efecto del medicamento o debido al ahogamiento [2], [3]. Una alternativa dinámica son los dispositivos microfluídicos [4]. El problema de estos dispositivos es que el flujo que pasa a través de ellos es de carácter laminar, por lo que muchas de las nanopartículas insertadas en el dispositivo no contactan con las células pegadas en la superficie inferior de los canales [5].

Para hacer frente a esto, y basándose en trabajos anteriores [6], se han diseñado 6 tipos de microestructuras embebidas en la superficie superior del dispositivo microfluídico utilizado para este test.

Por tanto, el objetivo de este trabajo es, una vez diseñadas diferentes microestructuras, fabricar los dispositivos con

estas microestructuras embebidas y comprobar si se rompe el carácter laminar del flujo en la cámara del dispositivo microfluídico. Para ello, se han hecho tanto simulaciones como ensayos experimentales.

2. Materiales y métodos

2.1. Diseño de los nuevos dispositivos con microestructuras

Se han hecho un total de 6 diseños de microestructuras diferentes. Estos diseños se dividen en dos bloques: “Microestructuras con forma de X”, del cual se han creado 2 diseños y “Microestructuras lineales”, del cual se han hecho 4 diseños. Los diseños de cada bloque se diferencian entre ellas en el grosor de las microestructuras (25/50 μm) y la separación entre ellas (25/50 μm , solamente en las microestructuras lineales).

También se han diseñado dispositivos con 3 y 5 entradas para poder insertar distintos colores por cada entrada y observar si se produce un mezclado de los distintos colores.

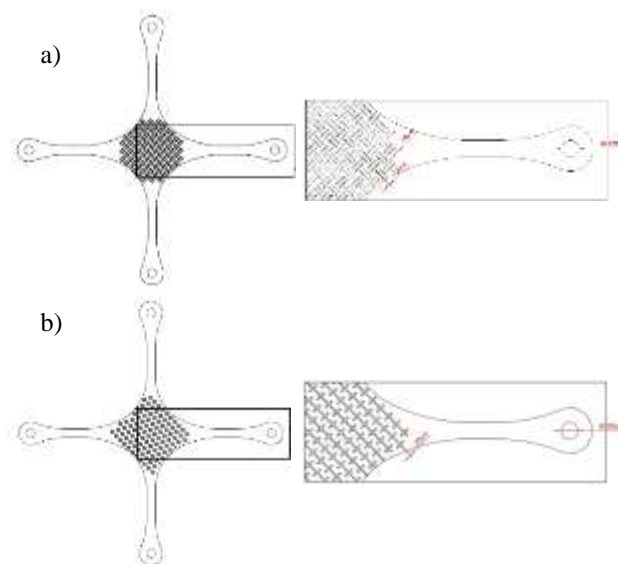


Figura 1. a) Diseño del dispositivo con microestructuras con forma lineal de un grosor de 25 μm y una separación de 50 μm . b) Diseño del dispositivo con microestructuras con forma de “X” de un grosor de 25 μm

Los dispositivos con múltiples entradas son análogos a la Figura 1 pero con 3 ó 5 entradas en uno de los lados.

2.2. Fabricación de los nuevos dispositivos con microestructuras

Los dispositivos han sido fabricados en PDMS. Primero, se han fabricado los moldes mediante fotolitografía de doble capa, siendo la primera la que servirá para replicar los canales microfluídicos y la segunda la que creará las microestructuras embebidas. Después, se ha procedido a replicar los moldes mediante el método de *casting*. Finalmente, se han pegado con plasma de oxígeno los dispositivos en PDMS tanto en vidrio (portaobjetos) como en silicio, dependiendo el experimento para el que van a ser útiles. Tanto los moldes como el PDMS replicado han sido caracterizados mediante el perfilómetro KLA-Tencor.

2.3. Simulación de los dispositivos microfluídicos

Las simulaciones se han llevado a cabo con el software COMSOL Multiphysics. Los parámetros simulados han sido las líneas de flujo dentro de los dispositivos y las velocidades de las células y nanopartículas dentro de la cámara. Con los resultados obtenidos, se ha calculado el factor de reducción de velocidad (diferencia entre las medias de velocidad máxima y mínima de las células dentro de la cámara) para la simulación de cada diseño.

2.4. Ensayos experimentales

Se han realizado 3 ensayos experimentales para obtener información acerca del efecto que crean las diferentes microestructuras en el comportamiento del flujo dentro de la cámara microfluídica. Para todos los ensayos se ha utilizado una bomba peristáltica.

El primero de ellos es la medición de la velocidad de las células que se insertan a través de los canales. Este experimento se ha realizado en el microscopio óptico Nikon Eclipse TS100 y con la ayuda de una cámara fotográfica Nikon D90 se han grabado los vídeos necesarios para cada tipo de dispositivo. El post-procesado de los vídeos se ha podido realizar gracias al software de Matlab “Cell Tracker” [7]. Este software identifica cada célula que pasa por la cámara microfluídica, y hace un seguimiento de cada una para después obtener información como el factor de reducción de velocidad.

El segundo experimento realizado es el de la medición del mezclado de colores. En este experimento, se han utilizado los dispositivos con múltiples entradas (3 ó 5) y por cada una de ellas se ha insertado un color. Después, se ha medido el grosor de la interfase. Este experimento también se ha realizado en el microscopio óptico, mediante la grabación de vídeos. La medición del grosor de la interfase se ha hecho mediante la creación de un código en Matlab.

El tercer y último experimento realizado es el de nanopartículas fluorescentes. El objetivo de este ensayo es medir el mezclado tridimensional del flujo. Este experimento es el único donde el PDMS se ha pegado en silicio en vez de en vidrio. Esto se debe a que es necesario biofuncionalizar (creación de una “Self Assembled Monolayer” sobre un depósito de oro) la superficie inferior de los canales. Tras la creación de la SAM, se han recirculado nanopartículas fluorescentes afines a la superficie funcionalizada. Después, mediante el

microscopio de fluorescencia Planar Eclipse Ti de Nikon, se ha podido calcular el porcentaje de ocupación de nanopartículas fluorescentes pegadas a la SAM para cada tipo de dispositivo.



Figura 2. Pruebas iniciales del experimento de 5 colores



Figura 3. Setup del experimento de nanopartículas fluorescentes

En todos los ensayos se han comparado los resultados obtenidos en los dispositivos con microestructuras con los resultados obtenidos en los dispositivos lisos.

3. Resultados y discusión

3.1. Caracterización de los moldes y el PDMS

En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos en la caracterización tanto de los moldes como del PDMS replicado. En él se puede ver la altura de los canales y las microestructuras embebidas. Estos resultados confirman que la réplica se ha hecho de manera óptima, y que las alturas obtenidas concuerdan con las que habían sido previstas (110 μm para los canales y 30 μm para las microestructuras).

Altura (μm)	Molde	PDMS
Canales	109.47 \pm 1.50	107.22 \pm 5.00
Microestructuras	28.41 \pm 4.93	30.92 \pm 2.95

Tabla 1. Caracterización de moldes y PDMS

3.2. Simulaciones

En cuanto a las simulaciones en COMSOL, en la Figura 4 se pueden observar las líneas de flujo simuladas para el dispositivo con microestructuras en forma de “X” y un grosor de 25 μm , y el dispositivo con microestructuras lineales de un grosor y separación de 25 μm . Se puede ver que las líneas de flujo no son lineales, a diferencia del dispositivo liso, donde las líneas de flujo sí son lineales.

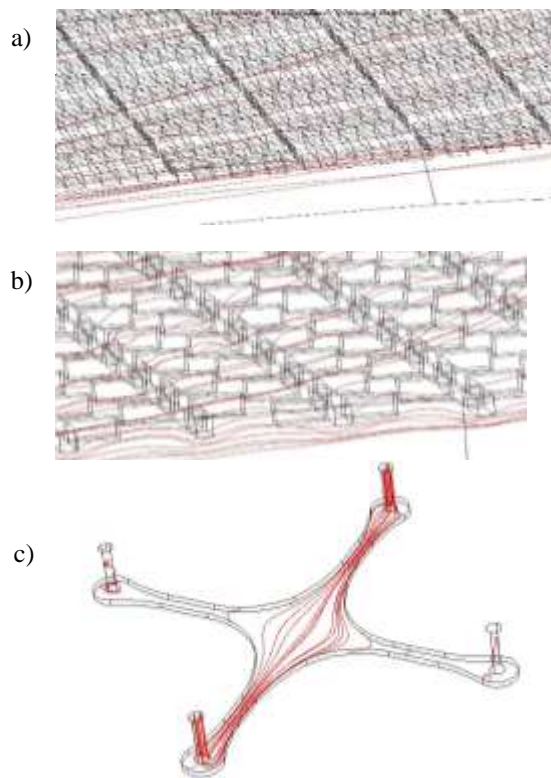


Figura 4. Líneas de flujo del dispositivo con microestructuras
a) Lineales de grosor y separación de 25 μm . b) Con forma de X de grosor de 25 μm . c) Sin microestructuras

El resultado de la simulación del factor de reducción de velocidad de las células muestra que no hay diferencia significativa entre el dispositivo liso y los dispositivos con microestructuras embebidas (Figura 6).

3.3. Ensayos experimentales

En primer lugar, se muestran los resultados obtenidos del ensayo de velocidad celular. En la Figura 5 se puede observar un ejemplo del resultado visual obtenido gracias al software *Cell Tracker*, en el que se puede apreciar con diferentes colores el recorrido que hace cada célula dentro de la cámara microfluídica.

Con los datos obtenidos con este software, podemos calcular el factor de reducción de velocidad de las células para cada tipo de dispositivo. En la Figura 6 se muestran los resultados obtenidos, tanto en las simulaciones previamente mencionadas como en este ensayo.

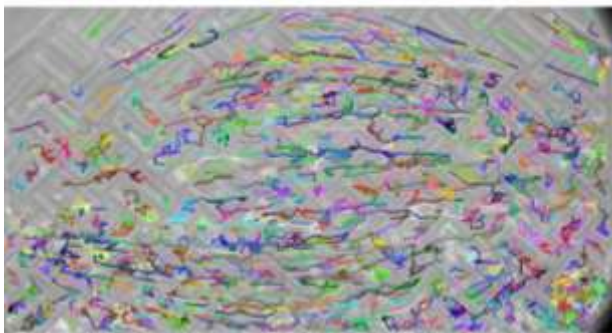


Figura 5. Recorrido de las células en la cámara microfluídica del dispositivo con microestructuras lisas con un grosor de 50 μm y separación de 25 μm

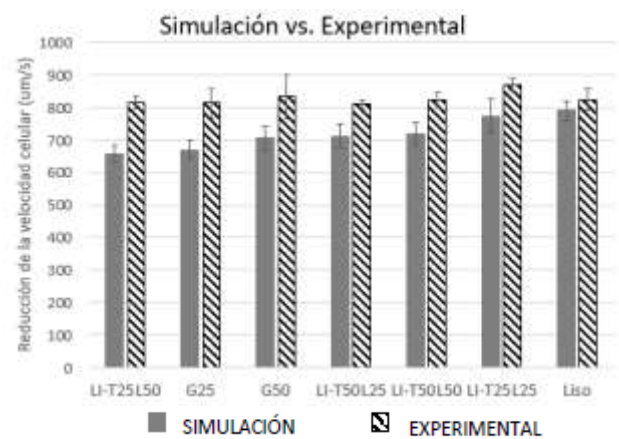


Figura 6. Factor de reducción de velocidad de las células en la simulación y en el ensayo experimental

De la Figura 6 se puede concluir que los valores obtenidos para cada tipo de dispositivo tanto en las simulaciones como en los ensayos reales son muy parecidos, y que no hay diferencias significativas entre el dispositivo liso y los demás dispositivos con microestructuras. En segundo lugar, se muestran los resultados obtenidos de los experimentos de colores. Nótese que se han tenido en cuenta solamente los resultados obtenidos de los experimentos de 3 colores, dado que los resultados de los ensayos de 5 colores presentaban una variabilidad muy alta, probablemente debido a la dificultad de diferenciar los valores RGB de cada color puro de los valores RGB de las interfaces entre los colores. En la Figura 7 se muestra esquemáticamente el post-procesado de las imágenes obtenidas.

Después del post-procesado, se obtiene el factor de agitación (porcentaje de incremento de la interfase entre dos colores en un dispositivo con microestructuras respecto al dispositivo liso o sin microestructuras) para cada tipo de dispositivo. El resultado del ensayo de 3 colores se muestra en la Figura 8.

En la Figura 8 se puede observar que todos los dispositivos con microestructuras tienen un factor de agitación positivo. Aun y todo, los dispositivos con microestructuras lineales de un grosor y separación entre ellas de 25 μm y los dispositivos con microestructuras lineales de un grosor y separación entre ellas de 50 μm son los que mayor factor tienen. Entre estos dos dispositivos, el primero es el más eficaz debido a su baja variabilidad.

Por último, se muestran los resultados del experimento de nanopartículas fluorescentes. Observando la Figura 9, se puede ver que los resultados obtenidos son muy diversos. Hay que destacar que el porcentaje de ocupación fluorescente para el dispositivo liso es muy bajo, el cual es un buen resultado.

En cuanto a los dispositivos con microestructuras, los únicos que han mostrado un resultado significativo han sido los dos dispositivos con microestructuras con forma de "X". Los ensayos con estos dos tipos de dispositivos fueron los últimos en realizarse, es decir, cuando el método experimental ya había sido optimizado.

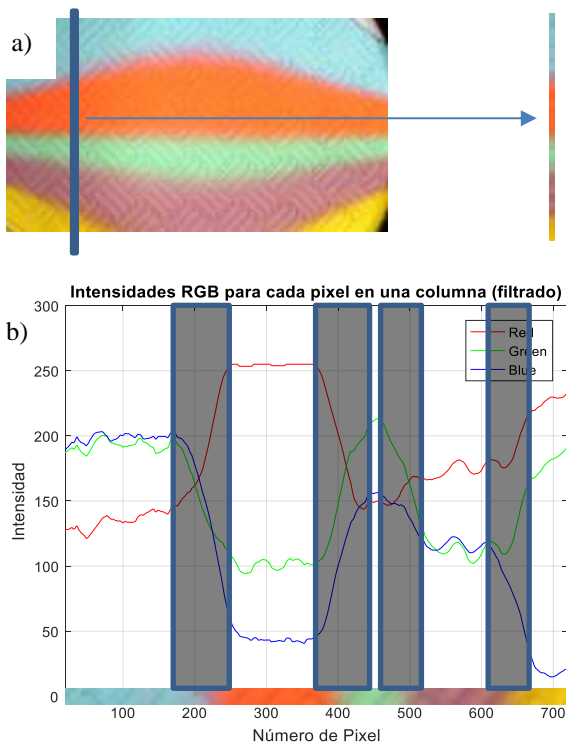


Figura 7. Esquema del post-procesado de las imágenes obtenidas en el experimento de 5 colores. a) Se obtiene una columna de píxeles de la imagen donde aparezcan los 5 colores insertados dentro de la cámara microfluídica. b) Se obtienen los valores RGB de cada uno de los píxeles obtenidos para diferenciar los valores de los colores puros de los valores de la interfase (en oscuro) entre dos colores.

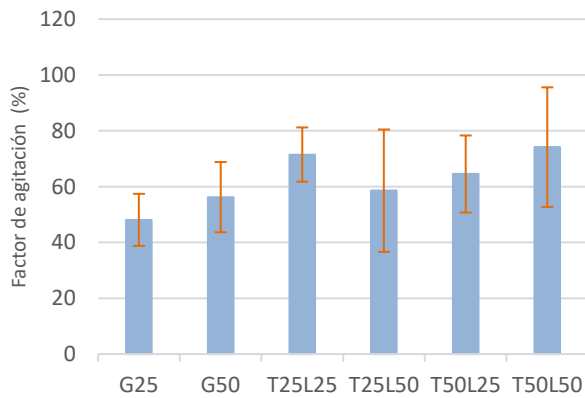


Figura 8. Factor de agitación en los ensayos de 3 colores

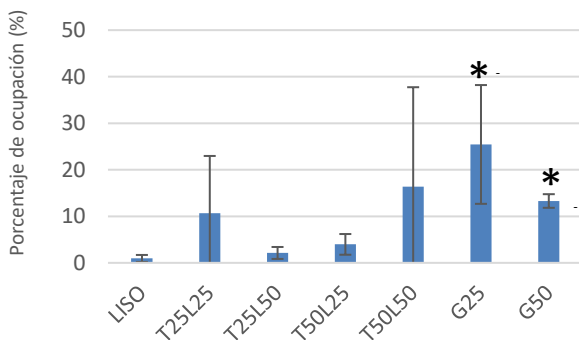


Figura 9. Porcentaje de ocupación de fluorescencia

Entre estos dos dispositivos, se puede observar que el que tiene un grosor de microestructuras de 25 μm (G25) tiene una mayor media, aunque tiene también mayor variabilidad. Aun y todo, G25 es el que mejores resultados ha dado ya que el valor más bajo que presenta es superior al valor medio del dispositivo con microestructuras de 50 μm (G50).

4. Conclusiones

Tras haber obtenido estos resultados, se pueden sacar varias conclusiones. En primer lugar, se han diseñado y fabricado satisfactoriamente los nuevos dispositivos con microestructuras embebidas. Además, se ha podido observar que el factor de reducción de velocidad de las células es similar para todos los dispositivos. Según las simulaciones de líneas de flujo, los dispositivos con microestructuras en forma de “X” de grosor de 25 μm (G25) y los dispositivos con microestructuras lineales con grosor y separación entre ellas de 25 μm (T25L25) han sido los que mejor rompen el carácter laminar del flujo. Del experimento de colores se ha observado que el dispositivo T25L25 es el que mayor factor de agitación tiene, y el dispositivo que mejor resultado ha dado en el experimento de ocupación de fluorescencia ha sido G25. Por tanto, se concluye que los dispositivos G25 y T25L25 son los que optimizan el mezclado del flujo laminar. El siguiente paso en esta línea de trabajo sería testear las nanopartículas con medicamento en estos dos dispositivos para comprobar si verdaderamente, las células de osteosarcoma cultivadas mueren a causa del medicamento.

Referencias

- [1] R. Peris Bonet et al., “Childhood cancer incidence and survival in Spain,” *Ann. Oncol.*, 2010.
- [2] M. Errázquin Irigoyen, “Estudio del comportamiento del flujo en dispositivos microfluídicos para análisis celulares,” 2015.
- [3] O. Mitxelena Iribarren et al., “Effectiveness of nanoencapsulated methotrexate against osteosarcoma cells: in vitro cytotoxicity under dynamic conditions,” *Biomed. Microdevices*, p. 1, 2017.
- [4] O. Mitxelena Iribarren, M. Mujika Garmendia, E. Pérez Lorenzo, M. J. Blanco Prieto, and S. Arana Alonso, “Simulación y desarrollo de una plataforma microfluídica para estudios celulares dinámicos in vitro,” 2015.
- [5] A. Kamholz and P. Yager, “Theoretical analysis of molecular diffusion in pressure-driven laminar flow in microfluidic channels,” *Biophys. J.*, 2001.
- [6] M. Gomez Aranzadi, “Diseño, fabricación y caracterización de microestructuras embebidas en sistemas microfluídicos para la mejora de la interacción superficie-análito en biosensores planares,” 2013.
- [7] F. Piccinini, A. Kiss, and P. Horvath, “CellTracker (not only) for dummies,” *Bioinformatics*, 2015.

Influencia de la frecuencia respiratoria inducida en los valores HRV

M. Calvo Fernández, M. Abad Vázquez, O. Díaz Carriet, A. Alberdi Aramendi, M. Barrenechea Carrasco, U. Ayala Fernández

Mondragon Unibertsitatea, Mondragón, España, {marta.calvo, maider.abad, olatz.diaz}@alumni.mondragon.edu, {aalberdiar, mbarrenetxea, uayala}@mondragon.edu,

Resumen

Dentro de la metodología POPBL que se desarrolla en Mondragon Unibertsitatea, se propuso a los estudiantes de 2º curso del Grado en Ingeniería Biomédica la realización de un primer trabajo científico. Es por ello que en este artículo se ha analizado la influencia de la frecuencia respiratoria en la variabilidad de la frecuencia cardíaca (Heart Rate Variability, HRV), analizando su efecto tanto en 6 parámetros temporales como en 3 espectrales. Para ello, se registraron los electrocardiogramas (ECG) de 112 sujetos voluntarios. Se analizó la diferencia entre los valores HRV obtenidos en las distintas fases mediante la prueba T pareada y calculando la tendencia entre las fases. Tanto en los resultados de las pruebas T pareadas como en los análisis de tendencias se ha observado el efecto de resonancia inducida por la respiración pautada en la frecuencia del ritmo cardíaco, siendo dicho efecto significativo en los parámetros espectrales. En base al estudio realizado se ha confirmado que existe un efecto de sincronización o resonancia siendo mayor cuando se induce una frecuencia respiratoria relativamente baja, lo que se observa en el aumento de potencia en los valores HRV espectrales correspondientes con dicha frecuencia respiratoria.

1. Introducción

La metodología POPBL ('Project Oriented Problem Based Learning'), que se aplica en el grado de Ingeniería Biomédica de Mondragon Unibertsitatea, tiene como objetivo la adquisición de competencias mediante la participación en proyectos semestrales. Dentro de este marco educativo, los estudiantes del 2º curso del Grado en Ingeniería Biomédica hemos participado en el desarrollo de un monitor de paciente inteligente capaz de registrar el electrocardiograma (ECG) y la señal de fotopleletismografía (PPG). Este proyecto multidisciplinar consta, por un lado, del montaje de las placas electrónicas necesarias para la correcta adquisición de las señales de ECG y PPG en las que se combina el uso de amplificadores, optoacopladores y filtros analógicos para la correcta adquisición de las bioseñales. Estas bioseñales se recogen mediante una tarjeta de adquisición MyDaq (National Instruments) y se procesan para eliminar artefactos que pudieran contaminar la señal. Este proceso se ha realizado mediante el diseño e implementación de filtros digitales. Las señales de ECG y PPG resultantes son posteriormente visualizadas en una interfaz gráfica desarrollada en LabView. La señal de ECG libre de artefactos se ha procesado mediante un detector de QRS basados en el algoritmo de Hamilton-Tompkins [1], seguido de un detector de picos para la correcta

localización de la onda R. Adicionalmente, se ha incorporado un sistema de ayuda al diagnóstico para la detección de varias cardiopatías y se ha diseñado un sistema inalámbrico de gestión y envío de alertas entre varios ordenadores sobre el protocolo TCP/IP simulando la comunicación entre el hospital y el equipo. El sistema de monitorización inteligente se puede observar en la Figura 1. Por último, se ha realizado un experimento con objeto de hallar la relación entre el sistema cardiovascular y el respiratorio.

Con el fin de desarrollar nuestro primer trabajo científico, los profesores del semestre nos propusieron analizar la interrelación existente en el aparato cardiorrespiratorio, incidiendo en la relación entre la variabilidad del ritmo cardíaco (Heart Rate Variability, HRV) y la frecuencia respiratoria. De hecho, la existencia de esta relación ya ha sido constatada por varios autores [2–5], donde mencionan que a ciertas frecuencias respiratorias se observa una sincronización entre frecuencia cardíaca y respiratoria. Esta relación se refleja, principalmente, en el fenómeno de arritmia sinusal respiratoria (Respiratory Sinus Arrhythmia, RSA), descrita como la alteración entre la aceleración inspiratoria de la frecuencia cardíaca y la deceleración espiratoria. La RSA se achaca a dos posibles fenómenos: la influencia de la respiración en los nervios vagos del corazón y el impacto de la respiración en el latido y las presiones intratorácicas [6–7]. Es por ello, que el efecto es más visible durante frecuencias respiratorias bajas.



Figura 1. Monitor de paciente inteligente desarrollado durante el proyecto semestral.

Más concretamente, ciertos estudios [8–10] analizan la influencia de la frecuencia respiratoria inducida en los valores HRV espectrales. Cysarz et al. [8] analizó dos modalidades de meditación que emplean ritmos ventilatorios bajos, destacando el aumento del valor del parámetro espectral LF, debido a la sincronización producida por la frecuencia respiratoria en el ritmo cardíaco. En el estudio llevado a cabo por Song et al. [9], se inducen distintas frecuencias respiratorias a 5 sujetos en repetidas ocasiones, observando que las frecuencias respiratorias más bajas producen valores HRV más altos que las frecuencias respiratorias más altas. Por último, Schipke et al. [10] analizaron el efecto de la resonancia no solo en los valores HRV espectrales sino también en los temporales. En su estudio, confirmaron la influencia de la frecuencia de respiración en los parámetros espectrales HRV, sin embargo, no encontraron diferencias significativas entre las distintas frecuencias respiratorias y los parámetros temporales analizados.

Con el objetivo de contrastar la existencia de la interrelación en el aparato cardiorrespiratorio, se han analizado los datos obtenidos en el experimento realizado durante el POPBL mediante herramientas estadísticas, teniendo como hipótesis principal que la influencia en los valores será mayor en los casos de respiraciones lentas.

2. Métodos

2.1. Protocolo y adquisición de datos

El experimento se ha llevado a cabo en las aulas de la Escuela Politécnica de Mondragón Unibertsitatea. Los sujetos fueron acostados sobre una mesa con la cabeza sobre una almohada con intención de minimizar los movimientos corporales que pudieran afectar al registro del ECG. Para el estudio se han utilizado las unidades de adquisición Biopac MP35 y MP36, cable de paciente con tres terminales y tres electrodos desechables por persona. La derivación analizada en el estudio ha sido la derivación II.

El protocolo, el cual ha sido aceptado por el Comité Ético de Mondragón Unibertsitatea, está compuesto de seis fases con distintas frecuencias respiratorias, cada una de una duración de 5 minutos. En las fases impares, no se forzó ninguna frecuencia respiratoria determinada, sino que el sujeto debía respirar de forma relajada y natural. Estas fases fueron definidas como fases de reposo. Durante la fase 2 se ha inducido una respiración lenta de entre 5-6 respiraciones por minuto (*bajo*), durante la fase 4 se ha inducido una respiración normal de entre 10-12 respiraciones por minuto (*normal*) y, por último, la fase 6 ha simulado una fase de hiperventilación de 60 respiraciones por minuto (*rápido*).

Los participantes dispusieron de un metrónomo con el objetivo de facilitarles el seguimiento del ritmo respiratorio en cada fase. Con el objetivo de analizar la influencia de la frecuencia de las respiraciones en los valores HRV, únicamente se registraron los ECGs de las fases 1, 2, 4 y 6, descartando las fases intermedias 3 y 5, consideradas de reposo. Cabe mencionar que la adquisición de los ECG se llevó a cabo a una frecuencia de muestreo de 1000 Hz.

2.2. Participantes

En esta investigación han participado 112 voluntarios de edades comprendidas entre los 18 y 25 años, ninguno con afecciones cardíacas significativas. Todos los participantes han firmado un consentimiento informado de la prueba antes de la realización de la misma. Cabe destacar que el sexo de los sujetos no ha sido un criterio de selección, encontrando tanto a hombres como a mujeres entre los voluntarios.

Para analizar los valores, únicamente se han tomado en cuenta los primeros 5 minutos de señal de cada fase. Es por ello que, de los 112 sujetos analizados, 4 registros fueron eliminados por no cumplir el tiempo mínimo en alguna de las fases. Otro registro también fue eliminado por presentar latidos ectópicos. Por lo tanto, se han analizado los registros de un total de 107 sujetos.

2.3 Parámetros HRV

Para este análisis se han calculado 6 parámetros HRV temporales (rrMean, rrSDNN, nn50, pnn50, rMSSD y SDDSD) y 3 valores HRV espectrales (pVLF, pLF y pHF) siguiendo los estándares de medida publicados en [11]. Los valores espectrales pVLF, pLF y pHF miden la proporción de la densidad de potencia espectral que se concentra en tres bandas de frecuencia distintas: pVLF (0.0033 – 0.04 Hz), pLF (0.04 – 0.15 Hz) y pHF (0.15 – 0.4 Hz). Como se puede observar, la fase 2 (5-6 respiraciones por minuto, 0.088 – 0.1 Hz) se solapa con la banda pLF y la fase 4 (10-12 respiraciones por minuto, 0.167 – 0.2 Hz) se solapa con la banda pHF.

2.4 Análisis de datos

Los 107 registros válidos se han procesado mediante el algoritmo de *Hamilton-Tompkins* [1] junto a un detector de máximos con el fin de detectar los complejos QRS y el pico R de una manera automatizada. Después, se ha llevado a cabo una revisión visual de los mismos para comprobar que todos los QRS habían sido correctamente detectados. Una vez detectados los picos R, se han calculado los valores HRV temporales y espectrales para las fases *reposo*, *bajo* y *normal* de cada sujeto. La fase *rápido* (60 respiraciones por minuto) fue eliminada del estudio, ya que la frecuencia respiratoria empleada, 1 Hz, está fuera del rango de frecuencia de los valores HRV espectrales (0.0033 – 0.4 Hz).

La significancia de la diferencia entre medias se ha evaluado mediante la prueba T pareada entre los casos *reposo-bajo* (reposo vs. respiración pautada a 5 respiraciones por minuto), *reposo-normal* (reposo vs. respiración pautada a 10-12 respiraciones por minuto) y *bajo-normal* (comparación entre la respiración pautada a 5 respiraciones por minuto y a 10-12 respiraciones por minuto).

Asimismo, para verificar que en función de la frecuencia respiratoria pautada se observa siempre una misma tendencia intrapaciente, se han medido las tendencias en

	<i>rest</i>	<i>low</i>	<i>normal</i>	<i>Paired t-test</i>		
				<i>rest-low</i>	<i>rest-normal</i>	<i>low-normal</i>
rrMean (ms)	909 (149)	888 (148)	911 (162)	0.32	0.9	0.28
rrSDNN (ms)	80 (48)	106 (48)	87 (49)	<0.01	0.34	<0.01
nn50 (n)	110 (65)	112 (85)	118 (92)	0.9	0.5	0.63
pnn50 (%)	36 (21)	34 (19)	37 (23)	0.48	0.68	0.27
rMSSD (ms)	78 (75)	86 (76)	84 (81)	0.46	0.56	0.9
SDSD (ms)	49 (42)	56 (46)	51 (36)	0.18	0.73	0.28
pVLF (%)	32 (18)	14 (12)	24 (17)	<0.01	<0.01	<0.01
pLF (%)	40 (15)	74 (13)	36 (20)	<0.01	0.09	<0.01
pHF (%)	28 (17)	12 (8)	40 (23)	<0.01	<0.01	<0.01

Tabla 1. Medias de los valores HRV de cada fase (*rest*, *low*, *normal*) y los respectivos resultados de los *paired t-test*

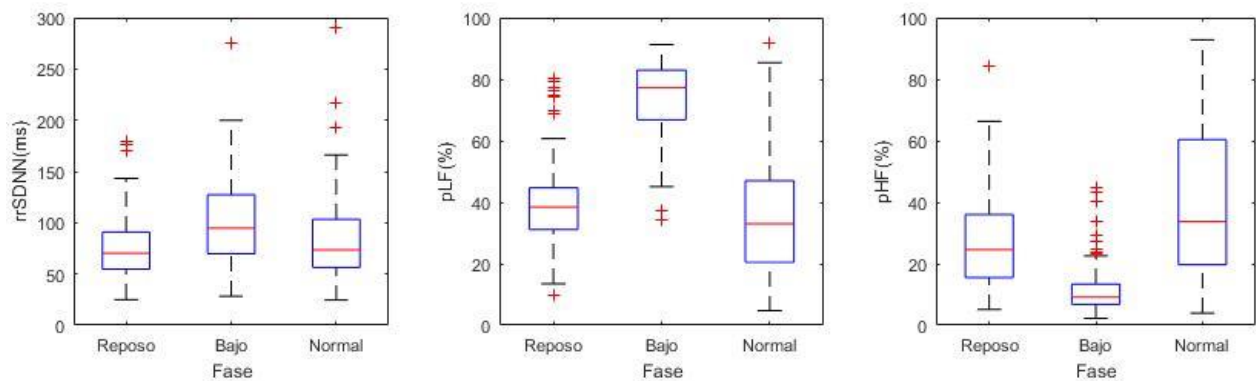


Figura 2. Diagramas de cajas y bigotes de los valores *rrSDNN*, *pLF* y *pHF* obtenidos mediante *paired t-tests*.

ciertos parámetros en porcentaje de casos. El objetivo ha sido cuantificar en qué ratio de los sujetos un parámetro siempre aumenta o disminuye al variar la frecuencia respiratoria pautaada. Para ello, solo se analizaron los parámetros de las fases *bajo* y *normal*, en las que la frecuencia de las respiraciones era conocida.

3. Resultados

La Tabla 1 muestra las medias y la desviación estándar de los parámetros HRV calculados para las fases *reposo*, *bajo* y *normal*, así como los resultados de las pruebas T pareadas. Asimismo, los boxplots obtenidos para las variables *rrSDNN*, *pLF* y *pHF*, que mostraron diferencias significativas en la prueba T pareada entre las fases *bajo-*

normal, se muestran en la Figura 2. Analizando los resultados de la Tabla 1, se observa que para *reposo-normal*, no hay diferencias significativas en los valores temporales mientras que sí se aprecian diferencias en los valores espectrales *pVLF* y *pHF*, principalmente debido al efecto de la resonancia que se aprecia en la Figura 3 donde se muestra el espectro promediado de las distintas fases. En el caso *reposo-bajo*, se aprecian diferencias en los valores espectrales, debido al profundo efecto de resonancia que se observa en la banda LF para la frecuencia de respiración analizada en la fase *bajo*, ver Figura 3. Además, cabe destacar que se han observado diferencias significativas en el valor temporal *rrSDNN*. En cuanto a los resultados obtenidos tanto en valores temporales como frecuenciales en *bajo-normal* son similares a los de *reposo-bajo* ya que el ritmo de respiración en la fase de *reposo* es similar al ritmo en *normal*.

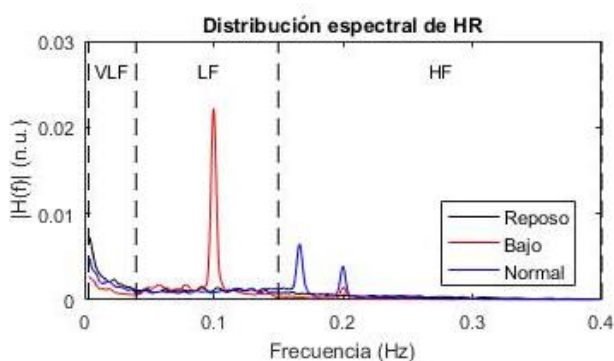


Figura 3. Comportamiento frecuencial de las fases *reposo* (respiración natural), *bajo* (5-6 respiraciones por minuto (rpm)) y *normal* (10-12 respiraciones por minuto (rpm)).

Al analizar la tendencia de los parámetros calculados entre las fases *normal-bajo* por cada paciente que mostraron significancia estadística en la diferencia de medias, se ha observado que el valor *rrSDNN* aumenta de la fase *normal* a la fase *bajo* en el 84 % de los sujetos. En cuanto al valor de *pLF*, se ha constatado que este parámetro aumenta de la fase *normal* a la fase *bajo* en un 94.4 % de los registros debido a la resonancia alrededor de las 5-6 respiraciones por minuto (entre 0.086 y 0.1 Hz), tal y como se muestra en la Figura 3. En cambio, el parámetro *pHF*, disminuye en un 93.5 % de los casos al contrario que en el caso anterior. Esto se debe una vez más al efecto de la resonancia alrededor de 0.166 y 0.2 Hz (Figura 3).

4. Discusión y conclusiones

En este estudio se ha analizado la relación entre los valores HRV y la frecuencia de respiración inducida. Los resultados obtenidos confirman la hipótesis de partida, es decir, que cuando se induce una frecuencia respiratoria relativamente baja, la potencia de los valores HRV espectrales aumenta en dicho rango frecuencial. Por ello, durante la fase *bajo*, que corresponde a 5-6 respiraciones por minuto (frecuencia de 0.08-0.1 Hz), se aprecia un aumento significativo en la potencia espectral de LF. Al mismo tiempo, durante la fase *normal*, correspondiente a 10-12 respiraciones por minuto, se observa un aumento de la potencia espectral en la banda de HF. Es por ello que se observan diferencias significativas entre las distintas fases en los parámetros espectrales.

Analizando los resultados obtenidos para los parámetros temporales, se ha podido confirmar resultados similares a estudios previos [7], en los que no se han observado diferencias significativas en general. Sin embargo, en nuestro estudio, se ha observado una diferencia significativa en el parámetro $rrSDNN$ entre la fase *bajo* y las otras dos fases. Esta diferencia puede estar justificada debido a que al realizar respiraciones más lentas, en las cuales las fases de inspiración y espiración son generalmente más largas, se produce un mayor cambio en el ritmo cardíaco [7].

Como se ha observado, la influencia de la frecuencia de respiración afecta a los valores HRV cuando se han analizado los valores intrapaciente. Las tendencias presentadas muestran dicho efecto siendo muy importante en los parámetros espectrales pLF y pHF, muestra clara del efecto de la resonancia.

Este efecto de la resonancia ha sido claramente confirmado y observado en la Figura 3. En esta figura, se puede observar cómo en la fase *bajo* hay un pico claro alrededor de los 0.1 Hz (frecuencia de las respiraciones) y en la fase 2 dos picos cerca de las frecuencias relacionadas con el ratio de respiraciones de 10-12 respiraciones por minuto. No obstante, en la fase *reposo* no se aprecia ningún pico significativo, que puede deberse al efecto de no realizar respiraciones de manera forzosa sino de manera natural, por lo que no se realizan de manera síncrona.

Cabe destacar la amplia participación de sujetos en el estudio, lo que confiere una alta fiabilidad a los resultados. La principal limitación de este estudio está relacionada con el hecho de no haber podido verificar mediante la adquisición de la señal de flujo respiratorio la frecuencia respiratoria exacta realizada por los sujetos, aunque ésta fue controlada por los supervisores del protocolo.

Referencias

- [1] Hamilton, P. S. y Tompkins, W. J., «Quantitative investigation of QRS detection rules using the MIT/BIH arrhythmia database», *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 12, pp. 1157-1165, 1986.
- [2] R. Bartsch, Jan W. Kantelhardt, T. Penzel, S.Havlin, «Experimental Evidence for Phase Synchronization Transitions in the Human Cardiorespiratory System.», *Physical Review Letters*, vol. 98, n.º 5, pp. 054102, 2007.
- [3] E. Toledo, S. Akselrod, I. Pinhas, D. Aravot, «Does synchronization reflect a true interaction in the cardiorespiratory system?», *Medical Engineering & Physics*, vol. 24, pp. 45-52, 2001.
- [4] Swarnalatha Nagarajan, «Heart rate variability during breathing at 0.1 Hz frequency in the standing position», *IOSR Journal on Dental and Medical Sciences*, vol. 13, n.º 11, pp. 45-47, 2014.
- [5] B.Aysin, E. Aysin, «Effect of Respiration in Heart Rate Variability (HRV) Analysis», *2006 International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, New York City, USA, 2006, pp. 1776-9.
- [6] Schulz S, Adochiei F-C, Edu y I-R, Schroeder R, Costin H, Bär K-J, Voss A, «Cardiovascular and cardiorespiratory coupling analyses: a review», *Philosophical Transactions of the Royal Society*, vol 371, n.º 1997, 2013.
- [7] MT. Valderas, M. Vallverdú, P. Caminal, «Extracción de la señal de respiración a partir del electrocardiograma», *Actas de las XXXVI Jornadas de Automática*, Bilbao, 2015, pp. 759-765.
- [8] D. Cysarz, A. Büssing, «Cardiorespiratory synchronization during Zen meditation», *European Journal of Applied Physiology*, vol. 95, pp. 88-95, 2005.
- [9] H. Song y P. Lehrer, «The Effects of Specific Respiratory Rates on Heart Rate and Heart Rate Variability», *Applied Psychophysiology and Biofeedback*, vol. 28, n.º 01, pp. 13-23, 2003.
- [10] J. D. Schipke, M. Pelzer, G. Arnold, «Effect of respiration rate on short-term heart rate variability», *Journal of Clinical and Basic Cardiology*, vol. 2, n.º 1, pp. 92-95, 1999.
- [11] American Heart Association y European Society of Cardiology, «Standards of heart rate variability», *European Heart Journal*, vol. 17, pp. 354-381, mar. 1996.

Towards an ensemble-level view of place encoding in hippocampal neuronal populations

D. Tomàs Cuesta^{1,2}, P. Jercog²

¹ Universitat Pompeu Fabra, Barcelona

² Institut d'investigacions Biomediques Agust Pi i Sunyer (IDIBAPS), Barcelona

Abstract

The study of Place Cells, hippocampal neurons tuned to spatial locations in the environment, is central to elucidate how the brain encodes and retrieves spatial information. Advances in genetic and imaging technologies have allowed keeping track of the dynamics of large ensembles of Place Cells across multiple days in mice. As the brain processes information at the neuronal population level, novel recording techniques such as in-vivo calcium imaging have the potential to unveil the mechanisms underlying the dynamics of place coding. However, with new recording paradigms comes the need to standardize and optimize the processing and first analysis stages of the data. In this work, we present our efforts in building a pipeline to process, extract, filter, track and analyze Place Cells from mice calcium imaging recordings in a linear-track experiment. To validate the pipeline, we show accurate prediction of the animal actions from the processed neural recordings. Finally, building on the previous steps, we present some tentative results on Place Cell turnover and the relation between predictive-accuracy and noise correlations.

1. Introduction

Of all brain capabilities, the ability to cognitively situate ourselves and our goal locations in the context of a physical environment is a highly sophisticated one, yet perhaps one of the many we take largely for granted. It is however difficult to imagine how the brain performs navigation and integrates other spatial functions without having an internal abstraction of the space. Finding and understanding this representation has been an ongoing task in psychology and neurosciences for numerous decades.

A milestone in this journey was the discovery in 1971 of Place Cells (PC) by John O'Keefe and John Dostrovsky [1]. PC are hippocampal neurons which show firing preference for specific spatial locations in the environment, and are now believed to be the main actors in how the brain encodes and retrieves spatial information. Across the years, electrophysiological recordings have enabled a profound characterization of PC. For example, it is known that, upon entering a new environment, they are tuned at the order of minutes [2], and remain robustly maintained from weeks to months, invariant under nonspatial changes [3].

However, due the single-cell nature of the recording techniques used, fundamental properties related to the information encoding and function of PC in the context of a neuronal population remain largely unexplored. Overcoming this limitation has motivated the adoption of

novel techniques allowing population-wide recordings in in-vivo animals. Underlying the aim for these analyses is the idea that information processing in the brain is carried out at the ensemble level. Single cell recordings, while invaluable from a physiological standpoint, provide but a limited picture of the mechanisms and computations involved in the different brain processes [4]. Furthermore, shifting the framework to single-trial, multiple neurons opens the door to the fields of Information Theory and Machine Learning, which could ultimately lead to novel insights on how brain encodes and processes spatial information.

One of the recording methods that have emerged in recent years consists on imaging the transient calcium signals in neurons, which act as surrogates of electrical activity. Upon calcium binding, genetically engineered sensors are able to produce fluorescence traces, which can then be captured by different types of cameras or microscopes [5].

In this work, we will focus on in-vivo one-photon calcium imaging recordings of sensor GCaMP6 [6] transfected PC, a method which achieves neuron population yields of >100 cells, albeit with some caveats, such as low temporal resolution, limited SNR, imaging artifacts, and lowpassing effect of spike dynamics.

While imaging calcium in cells opens new possibilities in studying neuronal circuit dynamics at ensemble level, changing the recording paradigm, together with dealing with the mentioned limitations, has also radically altered the data processing methods and conventions. There is now an urgent need for standardizing and optimizing the processing and first analysis stages of calcium imaging data.

The bulk of this work concerned designing, building, and automating a processing pipeline, in order to transform the raw calcium images into usable neurological data. We then coupled this processed data with the corresponding behavioral recordings of mice performing a simple linear track task, and validated the constructed pipeline by showing accurate behavioral prediction of the animal movement. Finally, we attempted to highlight the potential of ensemble level Place Cell Calcium Imaging recordings by investigating aspects related to population turnover and information coding reliability in the ensemble.

2. Processing the data

We divide our calcium data pipeline into a series of steps. For each day, pre-processing (figure 1A-C), concerns applying several transformations to the data, in order to make it suitable for cell extraction algorithms, in the extraction stage (figure 1D). After cells are extracted, they must then be filtered to remove false positives (figure 1E). Afterwards, the resulting neurons can be put in correspondence with the recordings of other days in the aligning stage (figure 1F). Besides, the fluorescence traces of the extracted cells (figure 1G) may be processed to extract the underlying spike train (figure 1H), using a de-convolution approach.

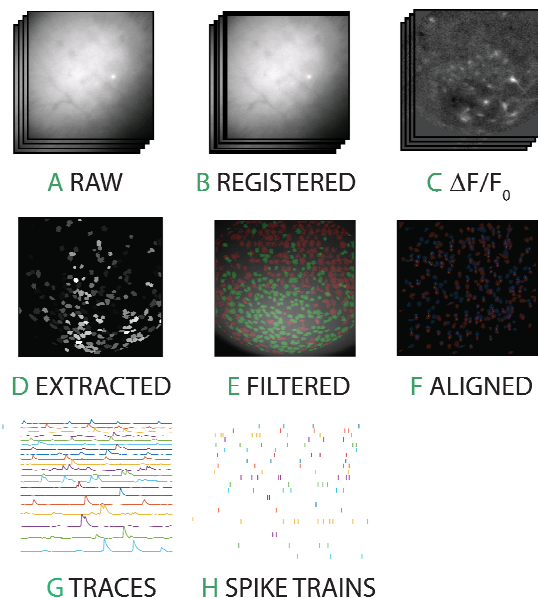


Figure 1. Overall processing pipeline, from the raw camera footage to the extracted cells, traces and spike trains. To build the pipeline, code from multiple sources; ImageJ and batch processing [7] for B,C,F, CELLMAX [8] and ICA [9] for D,G, OASIS [10] for H, was integrated.

2.1. Preprocessing

Using the miniscope software (Inscopix decompressor from Inscopix, inc.) we generated 3D image stacks from the miniscope output, corresponding to 20Hz movies of $\sim 560 \times 560 \mu\text{m}$ of tissue patch. The resulting dataset (see figure 1A, for a snapshot), is however not suitable for cell extraction, due to large file size ($>10\text{gb}$ for $\sim 20\text{min}$ recordings), external interferences, motion jitter and lens artifacts. To target those first issues we followed the Schnitzer lab pipeline [7] and used a set of MATLAB functions from the miniscope analysis toolbox written by Biafra Ahanonu. Using bi-linear interpolation, we spatially downsampled the files by a factor of 4, yielding $250 \times 250 \times \text{frames}$ matrices and effectively reducing the file size by a factor of 16. This allows holding the data in RAM memory for the most memory-demanding operations, like filtering. Next, motion jitter, which comes from the relative motion between the miniscope and the tissue, had to be removed. This task can be achieved using registration methods, which align the different

frames of the stack to a reference image by using landmarks known to be spatially fixed. We applied the Turboreg algorithm [11] from the ImageJ software (imagej.nih.gov), which uses a pyramid approach (starting the registration with a low-resolution image, progressively increasing the resolution to avoid getting stuck in a local minima) based on image intensity to align the different frames to the reference. Before the registration, the image was lowpassed to reduce high frequency noise, which further reduces local minima impact. To lowpass the movie, each frame was convolved with a Gaussian filter ($\sigma = 3, 80 \text{ pixels}^2$).

Besides motion, raw calcium imaging may also suffer from photo-bleaching (loss of fluorophore effectivity), external light fluctuations, tissue pulsation and other unwanted external effects. These issues can be minimized by using $\Delta F/F_0$, a transformation on the data that removes the baseline of the movie across frames [5]. In our definition, it corresponds to:

$$F'(t)_{ij} = \frac{F(t)_{ij}}{\frac{1}{N} \sum_{t=1}^N F(t)_{ij}} - 1$$

Where $F(t)_{ij}$ is the fluorescence at frame t and pixels i, j , and N is the number of frames in the movie. Then, if $F(t)_{ij}$ has the same value as its time average, its new value $F'(t)_{ij}$ maps to 0. As PC firing is sparse [2], removing the baseline will highlight the temporal calcium differences. As such, $\Delta F/F_0$ is a measure of the activity of the neurons (figure 1C).

2.2. Cell Extraction

Cell extraction is the process in which neurons, the sources of the fluorescence traces are inferred from the pre-processed movie. While it is technically possible to manually assign a ROI (region of interest) to the perceived fluorescence spikes, the length of the movies and multiple recording days, together with the variability of intensities and shapes of the fluorescence flashes, make an automated, systematic method necessary in practice. We explored two approaches to cell extraction, Independent Components Analysis (ICA) and Expectation Maximization (EM). Both are probabilistic methods rooted in statistical analysis, and generate a set of filters describing the most likely locations and shapes of the different cells, but they use distinct strategies to achieve this.

ICA is a method to find an underlying set of independent basis generating the data [12]. In the context of calcium imaging, the aim is to find the neurons that generated each frame by searching independent basis that maximize spatial and temporal sparseness of the resulting cells and traces [13]. We used the ICA implementation FastICA [9], and prior to extraction, reduced the dimensionality of the data using Principal Component Analysis (PCA), a method for finding a set of orthonormal basis minimizing reconstruction error [14].

Expectation minimization is a general iterative technique to solve maximum loglikelihood estimate problems in the presence of unknown latent variables [12]. The algorithm

we used for the extraction is CELLMax [8], and works in the following manner: First, a set of potential underlying neurons are initialized as a uniform grid of 2D Gaussians. These sources generate the observed frames via a quantum physical Bose-Einstein model that predicts the fluorescence photon counts. Comparing with the actual movie, the source image is modified to maximize the expected likelihood of the observed data.

As most datasets do not completely fulfill the sparseness assumptions required by ICA, we expected to EM have an edge in versatility and extraction accuracy. To test this, we computed several salient features for the extracted neurons of 19 recorded sessions. The extractions were performed with ICA and EM at different initial conditions and minimal iteration criteria, to check for convergence. We compared several features, relating the extracted cell shapes with the actual movie spike transients (correlation and overlap), comparing the SNR and shape of the transients of the different traces around the spikes, and computing properties of the extracted cells shape (area, solidity, eccentricity). The results revealed rapid convergence of EM with the number of iterations, and similar overlap, solidity, eccentricity and trace shape features between ICA and EM. Having found no conclusive discerning results, EM was used for the rest of the work on convenience grounds. An example of extraction results can be seen on figure 1D.

2.3. Cell Filtering

Despite the sophistication of the extraction algorithms, manual inspection of the resulting potential cells revealed a significant portion of them capturing noise, fragments of other cells, comprising multiple sources or being otherwise unconvincing as proper neurons. Filtering has the goal of getting rid of these false cells while conserving the good ones, in a consistent and objective manner. We explored three approaches to achieve this:

Automatic method: We manually filtered 17,578 cells and used the gathered features described in the previous step, to train several models with the aim to predict whether a cell was valid or not given the array of features. An accuracy around 90% was achieved for the best models (Decision Tree ensembles and Support Vector Machine), suggesting the viability of a fully automated filtering approach.

Semi-automatic method: We set conservative bounds on the features aiming to remove the maximum number of false cells while losing the least possible valid cells, in order to constrain manual selection latter on. Using this approach, we were able to remove a 41% of cells a priori, with minimal valid cell loss (~1%), reducing the burden of manual sorting considerably.

Manual, event-based method: An issue with our feature-based methods is their lack of robustness to overlapping neurons or false spikes, which mislead the extracted statistics. To solve this, we developed a software to, with human supervision; evaluate each event of a spike separately to assess the overall validity of the cell. To set an event as valid, we asked for a minimum

overlap with the extracted cell shape, penalizing for missing and overflowing areas.

2.4. Cell Alignment and spike train extraction

Aligning concerns finding the correspondence between the filtered cells of two or more days. As the miniscope was removed and reintroduced, we expect to find a 2D transformation (rotation dilation and translation) that relates the cells of neighboring days. In this sense, aligning the cells is similar to frame registration in the preprocessing stage, though performed at the cell-map level, and allowing for larger (coherent) displacements, and we used the Turboreg algorithm [11] once again.

Finally, to recover the underlying spike train from the cell fluorescence traces we used a deconvolution approach by Vogelstein [10], which assumes the spikes come from an exponential distribution and produce a decreasing exponential transient in the Ca²⁺. In this and posterior steps, we used the original sampled (20Hz) movies.

3. Pipeline validation

The experimental paradigm in which the data was gathered consists on the task of a mouse switching between two water ports on the extremes of a linear platform. The ports were triggered by the animal licking in an alternate manner, which meant that no water was awarded for sticking to one end of the track. Mice suffered no other punishment from performing badly, and were trained in advance. Two mice populations were used in the experiment, one performing the task every 2 days, and the other every 5 days.

We extracted the animal trajectory from behavioral videos by discarding all pixels brighter than the mouse, subtracting background to isolate moving parts and applying a morphological opening and erosion, which removes small unconnected regions. The position of the mouse in a given frame was taken as the centroid of the largest remaining region, an approach we observed to be reliable enough in practice. Outliers were removed and replaced using a piecewise cubic interpolation of the values at neighboring points, and the traces were smoothed using a zero phase digital filter with uniform weights and a 10 point window. Movement in the perpendicular direction to the track was discarded for being negligibly small.

To validate the pipeline, we binned the track in 20 segments (~5cm bins) and trained a Bayesian decoder to predict, for each camera frame, the bin the mouse was occupying, using the whole population of fluorescence traces. For each recording session, the decoder was trained with 90% of the data and tested with the remaining 10%. This was repeated 10 times with different segments. The error in the decoding was taken as the mean root squared difference between the true and predicted trajectories, averaged over the 10 bootstraps. Taking only the frames in which there was movement across the track (velocity > 4cm/s), the mean error was around 0.9bins (figure 2, green), indicating we were successfully extracting positional information from the data.

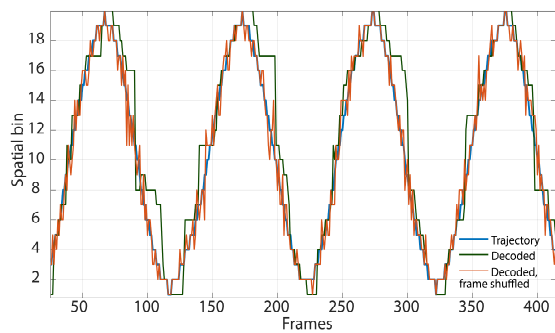


Figure 2. Predictions on the trajectory of the mouse along the track, with the slow frames removed.

4. Other results

Expanding on the decoding applications, we took a preliminary look on some aspects of PC ensemble coding.

4.1. Decoder accuracy and correlations

We wanted to see whether the accuracy of our decoder was limited by correlations between neurons. We shuffled among trials (a trial being one frame) the frames where the mouse occupied the same spatial bin, for each cell of the population separately, in order to remove interneuron correlations across trials. This resulted in decreased decoding error (figure 2, red).

To explore this finding, which could link to aspects of information coding reliability in PC, we computed the Place Fields (PF), the desired zones of firing of each neuron. For this, we extracted spike trains to find firing rates for the 20 spatial bins, normalizing by mean firing rate and animal's bin occupancy. We asked for PF significance by demanding a significant decrease in the mutual information between the firing rates and the mouse position when time-shifting the spike trains. With the PF computed, we then measured pair-wise correlations between cells as a function of the distance between their PF, and found that pairs with nearby PFs were positively correlated and that correlations faded away for pairs with distant PFs. This spatial pattern could deleterious for population decoding.

4.2. Turnover

It has previously been reported [7] that PC coding is highly dynamic, with different subsets of PC activated for a particular environment in each day. We investigated whether this turnover depended on the frequency that the animal had been exposed to the task. We computed decoding accuracy across days for two mice; Mouse A, which performed the task every 2 days and Mouse B, which performed the task every 5 days. We tracked the cells in the first recording day across the sessions, and measured how the decoding accuracy degraded when using a decoder trained in the first day. We also checked accuracy when training in each day to account for changes in the overall decoding performance due to photo-bleaching or other phenomena. While the results (figure 3) suffer from outliers (2nd session of B), they hint at a higher turnover for Mouse A than B, indicating

turnover increases when a spaced learning frequency is higher. Future work in this direction will be required to test this and related hypothesis.

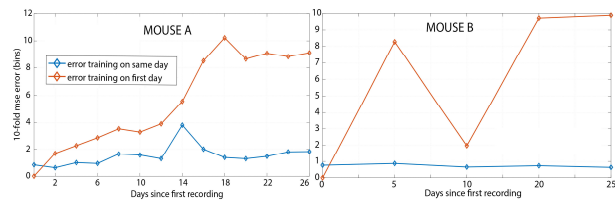


Figure 3. Decoding accuracy across days reveals turnover.

5. References

- [1] O'Keefe J, Nadel L. The Hippocampus as a Cognitive Map. Oxford University Press 1978 (ISBN: 978-0198572060)
- [2] Wilson MA, McNaughton BL. Dynamics of the hippocampal ensemble code for space. *Science*, vol 261, sup 5155, 1993, pp 1055–1058 (ISSN: 1095-9203)
- [3] Lenck-Santini PP, Rivard B, Muller RU, Poucet B. Study of ca1 place cell activity and exploratory behavior following spatial and nonspatial changes in the environment. *Hippocampus*, vol 15, sup 3, 2004, pp 356–369. (ISSN: 1098-1063)
- [4] Quiroga R.Q, Panzeri S. Extracting information from neuronal populations: information theory and decoding approaches, *Nature Neuroscience*, vol 10, sup 3, 2009, pp 173–185. (ISSN 1546-1726)
- [5] Grienberger C, Konnerth A. “Imaging calcium in neurons,” *Neuron*, vol 73, sup 5, 2012, pp 862–885. (ISSN: 0896-6273)
- [6] Chen TW, Wardill TJ, Svoboda K, Kim DS. Ultrasensitive fluorescent proteins for imaging neuronal activity, *Nature*, vol 499, sup 7458, 2013, pp 295–300. (ISSN: 0028-0836)
- [7] Ziv Y, Burns LD, Schnitzer MJ. Long-term dynamics of ca1 hippocampal place codes, *Nature Neuroscience*, vol 16, sup 3, 201, pp 264–266, (ISSN 1546-1726)
- [8] Kitch LJ. Machine learning meets mammalian learning: Statistical tools for large-scale calcium imaging and the study of changing neural codes. *Stanford Doctoral Thesis*, 2015.
- [9] Hyvarinen A, Oja E. Independent component analysis: algorithms and applications, *Neural Networks*, vol 13, sup 4–5, 2000, pp 411–430. (ISSN: 0893-6080)
- [10] Vogelstein JT, Packer AM, Paninski L. Fast nonnegative deconvolution for spike train inference from population calcium imaging, *Neurophysiology*, vol 104, sup 6, 2010, pp 3691–3704. (ISSN: 1573-9007)
- [11] Thevenaz P. A pyramid approach to subpixel registration based on intensity, *Iee transactions on image processing*, vol 7, sup 1, 1998, pp 27–41. (ISSN: 1057-7149)
- [12] Murphy KP. Machine Learning, A Probabilistic Perspective. MIT press 2012 (ISBN: 978-0262018029)
- [13] Mukamel E.A., Nimmerjahn A., Schnitzer M.J., Automated analysis of cellular signals from large-scale calcium imaging data, *Neuron*, vol 63, sup 6, 2009 pp 747–760. (ISSN: 0896-6273)
- [14] Bishop CM. Pattern Recognition and Machine Learning. Springer 2006 (ISBN: 978-0387310732)

Non-linear vibrations of an idealized saccular aneurysm

C. Ramón-Lozano¹, D. Aranda-Iglesia¹, J. A. Rodríguez-Martínez¹

¹ Department of Continuum Mechanics and Structural Analysis, University Carlos III of Madrid, Leganés, Spain, clara.ramon@alumnos.uc3m.es, faranda@ing.uc3m.es, jarmarti@ing.uc3m.es

Abstract

Intracranial saccular aneurysms are a small portion of a vessel that bulges outward forming a balloon like sac. Approximately 3% of the worldwide population suffer from this pathology and its rupture entails subarachnoid haemorrhage, causing in most of the cases brain damage or even death. Many physical and clinical factors highly affect their evolution; however, the main criteria for deciding their treatment is size.

The main contribution of this work is to develop a 3D mathematical model to describe the behaviour of an idealized intracranial saccular aneurysm. A study of its mechanical behaviour is performed to understand under which conditions the aneurysm will break. It is studied under three situations: subjected to an internal constant pressure and surrounded by a non-viscous Newtonian fluid, subjected to an internal constant pressure and surrounded by a viscous Newtonian fluid and subjected to an internal pulsatile pressure and surrounded by a viscous Newtonian fluid. Then, some parameters as the total pressure or the thickness of the wall are varied to understand how they influence their rupture.

1. Introduction

According to Tortora and Derrickson [1], an aneurysm is “a thin, weakened section of the wall of an artery or a vein that bulges outward, forming a balloonlike sac”. They are classified in three main groups: aortic, peripheral and cerebral. Among the last one, saccular aneurysms are the most common cerebral aneurysms and seem to be the most common cause of non-traumatic subarachnoid haemorrhage [2-3].

In order to understand the rupture of saccular aneurysms, it is important to study their mechanical behaviour. Some researches as Akkas [4] and Austin et al. [5] signalled that aneurysm’s rupture was derived from the apparition of limit point instabilities in the quasi-static response. In contrast, some other authors as Jain [6], Sekhar and Heros [7] and Sekhar et al. [8] proposed that rupture appeared when the pulsatile blood flow excited the natural frequency of the aneurysm’s wall, making it dynamically instable. This hypothesis was also supported by Simkins and Stehbins [9] and Hung and Botwin [10] but it was soon discarded since all these authors were assuming the shell membrane theory, which assumes infinitesimal strains and linear material behaviour. Additionally, they were not considering a surrounding cerebrospinal fluid (CSF).

Later, Shah and Humphrey [11] and David and Humphrey [12] introduced an internal pulsatile pressure and the pressure given by the CSF. Moreover, they studied the elastodynamics using a Fung-type pseudostrain-energy

function, concluding that these parameters were responsible of an increase in the stability of aneurysm’s wall. Furthermore, comparing the effect of different constitutive models they conclude that for a correct understanding of the dynamic behaviour of these structures, the strain-energy function has to be specifically calibrated for biological tissues to avoid non-real instabilities.

However, those authors developed their model in a 2-D framework and others as MacDonald et al. [13] and Costalat et al. [14] demonstrated that shell-membrane theory is not valid for all aneurysm’s thicknesses since radial stresses play an important role in this type of lesions. Therefore, due to the necessity of developing a 3D framework to describe the dynamic behaviour of previous researches, this paper extends the work of Humphrey and co-workers [11-12] considering a surrounding CSF and two different constitutive models. Additionally, we perform a parametric analysis to analyse which biological parameters influence into the rupture of these aneurysms.

2. Problem Formulation

In this section, we extend the work of Humphrey et al. [11-12] and we develop a 3D mathematical model of the problem of an intracranial saccular aneurysm surrounded by the CSF.

2.1. The Aneurysm’s Wall

In the framework of non-linear finite elasticity, the aneurysm’s wall is considered isotropic and incompressible. In spherical coordinates (R, θ, Φ) , the aneurysm occupies a volume Ω_0 in a reference configuration where $A \leq R \leq B$, being A the inner radius and B the outer one. Following the work of Costalat et al. [14] the values for the inner and outer radius correspond with $A = 4.3$ mm and $B = 4.67$ mm. The wall is deformed in such a manner that it maintains the spherical symmetry, being the motion in spherical polar coordinates (r, θ, ϕ) in a Ω configuration where $r(R, t)$ and $a \leq r \leq b$, being a and b the inner and outer deformed radius respectively.

So, setting the equilibrium for an infinitesimal spherical volume element, the balance of linear momentum in the radial direction is

$$\frac{\partial \sigma_r}{\partial r} + 2 \frac{(\sigma_r - \sigma_\theta)}{r} = \rho \ddot{r} \quad (1)$$

where superimposed dots mean differentiation with respect to time, $\sigma_r(r, t)$ and $\sigma_\theta(r, t)$ the radial and

circumferential Cauchy stresses and $\rho = 1050 \text{ kg/m}^3$ the density of the aneurysm's wall [11].

Since the radial and circumferential stretches are $\lambda_r = \frac{\partial r}{\partial R}$ and $\lambda_\theta = \lambda_\phi = \lambda = \frac{r}{R}$, assuming the incompressibility condition ($\lambda_r \lambda_\phi \lambda_\theta = 1$) it is deduced that

$$\lambda(r, t) = \left(\frac{B^3}{R^3} (\lambda_b^3 - 1) + 1 \right)^{\frac{1}{3}} \quad (2)$$

where $\lambda_b = \frac{b}{B}$ is the circumferential stretch in the outer wall of the aneurysm. Then, by calculating the derivatives of equation (2) with respect to r and t

$$\frac{\partial \lambda}{\partial r} = -\frac{\lambda^3 - 1}{R} \quad (3)$$

$$\ddot{\lambda} = \frac{\lambda^3 - 1}{\lambda_b^3 - 1} \left(\frac{2\lambda_b \dot{\lambda}_b^2 + \lambda_b^2 \ddot{\lambda}_b}{\lambda^2} - \frac{2\lambda_b^4 \dot{\lambda}_b^2 \lambda^3 - 1}{\lambda^5 (\lambda_b^3 - 1)} \right) \quad (4)$$

where superimposed dots mean derivation of the λ with respect to time. Then, by introducing eq. (3) and eq. (4) into eq. (1), the balance of linear momentum results as

$$\frac{\partial \sigma_r}{\partial \lambda} - 2 \frac{(\sigma_r - \sigma_\theta)}{\lambda(\lambda^3 - 1)} = \rho B^2 \left(\frac{2\lambda_b^4 \dot{\lambda}_b^2}{(\lambda_b^3 - 1)^{\frac{4}{3}}} \frac{(\lambda^3 - 1)^{\frac{1}{3}}}{\lambda^5} - \frac{2\lambda_b \dot{\lambda}_b^2 + \lambda_b^2 \ddot{\lambda}_b}{(\lambda_b^3 - 1)^{\frac{1}{3}}} \frac{1}{\lambda^2 (\lambda^3 - 1)^{\frac{2}{3}}} \right) \quad (5)$$

From the work of Ogden et al. [15] it is known that for an incompressible shell $\sigma_r - \sigma_\theta = -\frac{1}{2} \lambda \frac{d\psi}{d\lambda} (\lambda^{-2}, \lambda, \lambda)$, being ψ the strain-energy function, which describes the mechanical behaviour of the material. Introducing the previous relation and integrating eq. (5) over the thickness of the aneurysm, we obtain that

$$P_b(t) - P_a(t) + \int_{\left(\frac{\lambda_b^3 + f_0 - 1}{\lambda_b}\right)^{\frac{1}{3}}}^{\lambda_b} \frac{\psi'(\lambda)}{\lambda^3 - 1} d\lambda = \rho B^2 \left(\lambda_b \ddot{\lambda}_b \left(\frac{\lambda_b}{(\lambda_b^3 + f_0 - 1)^{\frac{1}{3}}} - 1 \right) - \rho B^2 \left(\lambda_b^2 \left(\frac{\lambda_b^4}{2(\lambda_b^3 + f_0 - 1)^{\frac{4}{3}}} - \frac{2\lambda_b}{(\lambda_b^3 + f_0 - 1)^{\frac{1}{3}}} + \frac{3}{2} \right) \right) \right) \quad (6)$$

where prime ($'$) denotes differentiation with respect the circumferential stretch. Moreover, the dimensionless parameter $f_0 = \frac{A^3}{B^3} = 0.78$ characterizes the thickness of the aneurysm's wall and $P_a(t)$ and $P_b(t)$ describe the blood pressure and the pressure exerted by the CSF on the aneurysm respectively.

2.2. Blood Pressure

The aneurysm's wall is subjected to two different internal pressures. Eq. (7a) shows a constant blood pressure and eq. (7b) a pulsatile radially symmetric blood pressure, based on the data measured by Ferguson [16] for saccular aneurysms and assuming the pressure is uniform inside.

$$P_a = P_m \quad (7a)$$

$$P_a(t) = P_m + \sum_{n=1}^N (A_n \cos(n\omega t) + B_n \sin(n\omega t)) \quad (7b)$$

$P_m = 65.7 \text{ mmHg}$ is the mean pressure and A_n and B_n are the Fourier coefficients for N harmonics, being ω the fundamental circular frequency. According to the work by Shah and Humphrey [11], we use five harmonics that are: $A_1 = -7.13$, $B_1 = 4.64$, $A_2 = -3.08$, $B_2 = -1.18$, $A_3 = -0.13$, $B_3 = 0.564$, $A_4 = -0.205$, $B_4 = 0.346$, $A_5 = 0.0662$ and $B_5 = -0.12$, all in mmHg.

2.3. Cerebrospinal Fluid

The aneurysm is surrounded by the CSF. Considering it to be incompressible and Newtonian, it is described by

$$P_b(t) = -p_\infty - \rho_f B^2 \left(\frac{3}{2} \dot{\lambda}_b^2 - \lambda_b \ddot{\lambda}_b \right) - 4\mu \frac{\dot{\lambda}_b}{\lambda_b} \quad (8)$$

where ρ_f and μ are the density and viscosity of the CSF respectively.

2.4. Non-linear Governing Equation

Finally, by introducing the pressure expressions into eq. (6), and making all non-dimensional, the non-linear governing equation arises:

$$\overline{\Delta P} = \int_{\lambda_b}^{\left(\frac{\lambda_b^3 + f_0 - 1}{\lambda_b}\right)^{\frac{1}{3}}} \frac{\psi'(\lambda)}{\lambda^3 - 1} d\lambda + 4\kappa \frac{\dot{\lambda}_b}{\lambda_b} - \overline{\rho} \left(\lambda_b \ddot{\lambda}_b + \frac{3}{2} \dot{\lambda}_b^2 \right) - \lambda_b \ddot{\lambda}_b \left(1 - \frac{\lambda_b}{(\lambda_b^3 + f_0 - 1)^{\frac{1}{3}}} \right) - \dot{\lambda}_b^2 \left(\frac{\lambda_b^4}{2(\lambda_b^3 + f_0 - 1)^{\frac{4}{3}}} - \frac{2\lambda_b}{(\lambda_b^3 + f_0 - 1)^{\frac{1}{3}}} + \frac{3}{2} \right) \quad (9)$$

where now, superimposed dots denote differentiation with respect the dimensionless time. This equation returns some dimensionless groups such the dimensionless pressure $\overline{\Delta P} = \frac{P_a(t) - P_\infty}{C_{N10}} - \frac{P_\infty}{C_{N10}}$, the dimensionless strain-energy function $\overline{\psi(\lambda)} = \frac{\psi(\lambda)}{C_{N10}}$ and the dimensionless harmonics $\overline{A_i} = \frac{A_i}{C_{N10}}$ and $\overline{B_i} = \frac{B_i}{C_{N10}}$, all non-dimensionalized with the parameter C_{N10} , which is a parameter empirically determined for the aneurysm's wall. Other groups as $\kappa = \frac{\mu}{B \sqrt{\rho C_{N10}}}$ defines the ration between the characteristics time scales (speed of stress waves) of CSF and aneurysm's wall, $\overline{\rho}$ the ratio between the CSF and aneurysm's wall densities and $\overline{\omega} = \omega \sqrt{\frac{\rho B^2}{C_{N10}}}$ the dimensionless fundamental angular frequency.

2.5. Constitutive Model

In this work, we employ two different strain-energy functions corresponding to the Neo-Hookean and the 3-parameters Mooney-Rivlin models to describe the mechanical behaviour of the aneurysm's wall.

- Neo-Hookean Model

$$\psi = C_{N10}(I_1 - 3) \quad (10)$$

- 3-parameters Mooney-Rivlin Model

$$\psi = C_{M10}(I_1 - 3) + C_{M01}(I_2 - 3) + C_{M11}(I_1 - 3)(I_2 - 3) \quad (11)$$

I_1 and I_2 are the first two invariants of the left Cauchy-Green deformation tensor. According to data obtained by Costalat et al. [14] using experimental results obtained from 16 intracranial saccular aneurysms tested in uniaxial tension under physiological conditions, $C_{M10} = 0.19 \text{ MPa}$, $C_{M01} = 0.024 \text{ MPa}$ and $C_{M11} = 7.87 \text{ MPa}$. For the

Neo-Hookean model, $C_{N10} = 0.214\text{MPa}$ has been selected to ensure that Neo-Hookean and Mooney-Rivlin models provide the same initial shear modulus. A comparison between these models is performed to disclose the role of the mechanical behaviour of the wall into the dynamic response of the aneurysm.

2.6. Numerical Solution

Eq. (9) can be reduced to a system of two first-order differential equations. Being $z_1 = \lambda_b$ and $z_2 = \dot{\lambda}_b$:

$$\begin{aligned} z_2 &= \dot{z}_1 \\ \dot{z}_2 &= \frac{\overline{\Delta P} - \int_{z_1}^{\left(\frac{z_1^3 + f_0 - 1}{\lambda_b}\right)^{\frac{1}{3}}} \frac{\psi'(\lambda)}{\lambda^3 - 1} d\lambda - 4\kappa \frac{z_2}{z_1} + z_2^2 \left(\frac{3}{2} + \frac{z_1^4}{2(z_1^3 + f_0 - 1)^{\frac{4}{3}}} - \frac{2z_1}{(z_1^3 + f_0 - 1)^{\frac{1}{3}}} - \frac{3}{2\bar{\rho}} \right)}{z_1 \left(\bar{\rho} + \frac{z_1}{(z_1^3 + f_0 - 1)^{\frac{1}{3}}} - 1 \right)} \end{aligned} \quad (12)$$

This system of differential equations is solved numerically using a fourth-order Runge-Kutta method available in MATLAB for stiff differential equations. Recall that the motion of every material point along the aneurysm's wall is determined once λ_b is known.

For a detailed derivation of the problem formulation, see the final bachelor thesis named “Non-linear vibrations of an idealized saccular aneurysm” [17].

3. Results

As presented before, in this work we analyse how different biological parameters affect the dynamic stability of an idealized saccular aneurysm. Consequently, we present how it behaves when it is subjected to a constant internal pressure and non-viscous CSF, to a viscous CSF and finally, to an internal variable pressure. The reference values employed in this analysis are taken from the works of Shah and Humphrey [11] and Costalat et al. [14] and correspond with: $\rho = 1050 \text{ kg/m}^3$, $\rho_f = 1000 \text{ kg/m}^3$, $p_\infty = 3 \text{ mmHg}$ and $A = 4.3 \text{ mm}$ and $B = 4.67 \text{ mm}$. In the graphs, the reference case is marked with an asterisk.

During the parametric analysis, we look for the bifurcation point (the point at which the wall of the aneurysm stops oscillating) and then analyse if the value reached by the parameter we are varying is biologically achievable or not. In all the cases, we also see that whereas for the Neo-Hookean model we reach a bifurcation, we never achieve one for the case of Mooney-Rivlin. This occurs because since the order of the Mooney-Rivlin model is higher than the framework of the formulation, the model will never bifurcate. By this way, since the Mooney-Rivlin is of $O(4)$ and the mathematical formulation of $O(3)$, a bifurcation never occurs no matter the value of the parameter we are varying. Consequently, we see that the mathematical formulation is highly dependent in the constitutive model we choose.

3.1. Non-viscous CSF and Constant Blood Pressure

For the most basic case we have varied the dimensionless value of pressure. As seen in figure 1a, the phase diagram shows that the aneurysm is oscillating until we reach a value of $\overline{\Delta P} = 0.185$, where a bifurcation occurs in the

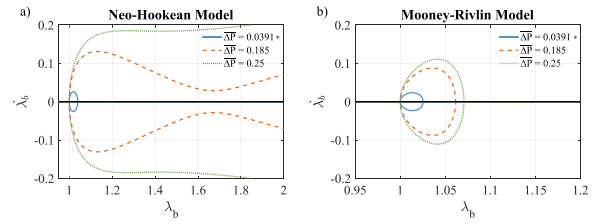


Figure 1: Comparison of the aneurysm's model for Neo-Hookean and Mooney-Rivlin model. For various $\overline{\Delta P}$ at $f_0 = 0.7806$, $\bar{\rho} = 0.9524$ and $\kappa = 0$.

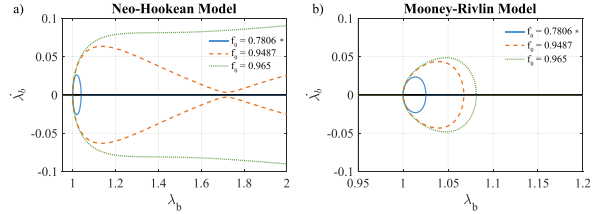


Figure 2: Comparison of the aneurysm's model for Neo-Hookean and Mooney-Rivlin model for various f_0 at $\overline{\Delta P} = 0.0391$, $\bar{\rho} = 0.9524$ and $\kappa = 0$.

case of Neo-Hook. However, this value is not biologically achievable since, according to the data provided by Williams et al. [18], adults with severe hypertension will achieve values of pressure equal or higher to 180 mmHg, which corresponds with a dimensionless pressure of 0.1121. Nevertheless, even though this value is not high enough for the bifurcation to occur and is relatively far from the pressure needed (about 296 mmHg) it seems that the influence of pressure is relevant enough and it should be explored for other and more accurate constitutive models. Graph 1b shows the behaviour of the aneurysm's wall for the Mooney-Rivlin. As expected, no bifurcation occurs although significantly high values as $\overline{\Delta P} = 1000$ has been tried. Hence, we see that the behaviour of the aneurysm's model highly depends in the constitutive model we select.

Now, continuing with figure 2, the variations with respect to the internal and external radius are explored. As before, three different situations appear, one with the reference case and another two exploring the bifurcations points. So, for the case of Neo-Hookean model, the bifurcations appear at a value of $f_0 = 0.9478$. In contrast with the previous case, there exists a limit thickness for which a bifurcation occurs and consequently, the rupture of the aneurysm. We know from literature that the thickness of aneurysms vary considerably, finding small aneurysms with a thickness between 0.02 mm and 0.08 mm, whose models can be calculated assuming the membrane's theory, and others with larger thickness as 0.375mm or even 0.51mm. Consequently, those aneurysms with a thickness around 0.08 mm or smaller [19], whose $f_0 \sim 0.92590$ or higher will break.

3.2. Viscous CSF and Constant Blood Pressure

In a first attempt, the model has been computed with the viscosity given by Shat et al. [11]. $\mu = 1.26 \cdot 10^{-4} \text{ Ns/m}^2$, which corresponds with a value of $\kappa = 1.8 \cdot 10^{-6}$. However we see that for this value the behaviour of the aneurysm experiments no change and that the

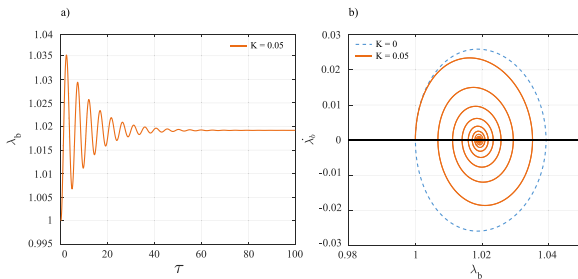


Figure 3: Aneurysm's model at reference conditions ($\Delta P = 0.0391$, $\bar{p} = 0.9524$ and $f_0 = 0.7806$) with a viscosity of $\kappa = 0.05$ and a constant internal pressure for the Neo-Hookean model. Graph a) shows how the stretch evolves over time and graph b), the phase diagram.

viscosity value required for the oscillation to attenuate is far from the achievable ones. However, since the parameter κ is influenced by other parameters as the external radius, the density of the solid or the constitutive model parameter, we explore in figure 3 the point at which the model will experiment an attenuation of the oscillation. From graph 3a and 3b it can be easily deduced that the aneurysm is oscillating at time $\tau = 0$ but that the amplitude of the oscillation decreases in each period. At the end, the oscillation dies in an attractor point that corresponds with $\lambda_b = 1.02$. From this value is concluded that the final state of the aneurysm is a deformed non-oscillating one and that the aneurysm does not undergo any bifurcation.

3.3. Viscous CSF and Pulsatile Blood Pressure

Finally, we introduce an internal pulsatile pressure. We perform the calculations for $\kappa = 0.05$ since it is the value for which the aneurysm's oscillation experiments some attenuation. So finally, figure 4 shows the phase diagram corresponding to the outer surface of the aneurysm, being the dashed line the transient response of the aneurysm whereas the solid red one, the steady state. The transient response corresponds with a gradual reduction in the velocity and amplitude of the oscillations until it reaches the steady state, where the motion of the oscillations becomes periodic and follows a limit cycle. The limit cycle appears because of the balance between the work resulting from the applied pressure and the energy dissipated due to the parameter κ and corresponds with the cycle in the phase diagram around which the oscillation of the wall of the aneurysm stabilizes.

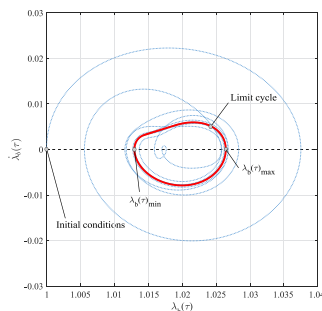


Figure 4: Phase diagram showing the effect of a variable internal pressure in the aneurysm's model at $\bar{p} = 0.9524$, $f_0 = 0.7806$, $\kappa = 0.05$ and $\bar{\omega} = 1$ for the Neo-Hookean model.

4. Conclusions

Along this work we have develop a 3D mathematical model that describes the dynamic behaviour of an idealized saccular aneurysm that has been tested for different situations and constitutive models. We have appreciated that the dynamic behaviour of mathematical model is highly influenced by the constitutive model employed; just a precise energy-function fitted for biological parameters will return a correct behaviour of the aneurysm. Moreover, we have seen that pressure and thickness seems to affect the rupture of the aneurysm's wall and that some value of $\kappa \sim 0.05$ will collaborate in the attenuation of the oscillation. Finally, it has been observed that when we introduce into the model an internal pulsatile pressure, the aneurysm reaches a limit cycle and oscillates constantly in time.

References

- [1] Tortora, G. J., and Derrickson, B. Principles of Anatomy & Physiology, 13th ed. John Wiley & Sons, 2012.
- [2] Chalouhi, N., Hoh, B. L., and Hasan, D. Review of cerebral aneurysm formation, growth and rupture. *Journal of the American Heart Association*, vol 40, 2013, pp 3613-3622.
- [3] Meng, H., Tutino, V., Xiang, J., and Siddiqui, A. High wss or low wss? complex interactions of hemodynamics with intracranial aneurysm initiation, growth, and rupture: Toward a unifying hypothesis. *American Journal of Neuroradiology*, vol 35, sup 7, 2014, pp 1254-1262.
- [4] Akkas, N. Biomechanical Transport Processes. Springer, 1990. Chapter: Aneurysms as a biomechanical instability problem.
- [5] Austin, G., Schievink, W., and Williams, R. Controlled pressure-volume factors in the enlargement of intracranial aneurysms. *Neurosurgery*, vol 24, sup 5, 1989, pp 722-730.
- [6] Jain, J. Mechanism of rupture in intracranial saccular aneurysms. *Surgery*, vol 54, sup 2, 1963, pp 347-350.
- [7] Sekhar, L. N., and Heros, R. C. Growth, origin and rupture of saccular aneurysms: A review. *Neurosurgery*, vol 8, sup 2, 1981, pp 248-260.
- [8] Sekhar, L. N., Scialassi, R. J., Sun, M., Blue, H. B., and Wasserman, J. F. Growth, origin and rupture of saccular aneurysms: A review. *Stroke*, vol 19, sup 3, 1988, pp 352-356.
- [9] Simkins, T., and Stehbins, W. Vibrational behavior of arterial aneurysms. *Letters in Applied and Engineering Sciences*, sup 1, vol 85, 1973, pp 100.
- [10] Hung, E. J., and Botwin, M. R. Mechanics of rupture of cerebral saccular aneurysms. *Journal of Biomechanics*, vol 8, sup 6, 1975, pp 385-392.
- [11] Shah, A. D., and Humphrey, J. D. Finite strain elastodynamic of intracranial saccular aneurysms. *Journal of Biomechanics*, vol 32, 1999, pp 593-599.
- [12] David, G., and Humphrey, J. D. Further evidence of the dynamic stability of intracranial saccular aneurysms. *Journal of Biomechanics*, vol 36, 2003, 1143-1150.
- [13] Macdonald, D. J., Finlay, H. M., and Canham, P. B. Directional wall strength in saccular brain aneurysms from a polarized light microscopy. *Annals of Biomedical Engineering*, vol 28, 2000, pp 533-542.
- [14] Costalat, V., Sanchez, M., Amard, D., Thines, L., Lonjon, N., Nicoud, F., Brunel, H., Lejeune, J. P., Dufour, H., Bouillot, P., Lhaldky, J. P., Kouri, K., Segnarbieux, F., Maurage, C. A., Lobotesis, K., Villa-Uriol, M. C., Zhang, C., Frangi, A. F., G., M., Bonafè, A., Sarry, L., and Jourdan, F. Biomechanical wall properties of human intracranial aneurysms resected following surgical. *Journal of Biomechanics*, vol 44, sup 15, 2011, pp 2685-2691.
- [15] Ogden, R. Non-linear Elastic Deformations. Dover Civil and Mechanical Engineering. Dover Publications, 1997.
- [16] Ferguson, G. G. Direct measurement of mean and pulsatile blood pressure at operation in human intracranial saccular aneurysms. *Journal of Neurosurgery*, vol 36, sup 5, 1972, pp 560-563.
- [17] Ramón Lozano, Clara, Non-linear vibrations of an idealized saccular aneurysm. *E-archivo Universidad Carlos III de Madrid*, 2017.
- [18] Williams, B., Poulter, N., Brown, M., Davis, M., McInnes, G., Potter, J., Sever, P., and Thom, S. M. Guidelines for management of hypertension: report of the fourth working party of the british hypertension society, *Journal of Human Hypertension*, vol 18, 2004, pp 139-185.
- [19] Isaksen, J. G., Bazilevs, Y., Kvamsdal, T., Zhang, Y., Kaspersen, J. H., Waterloo, K., Romner, B., and Ingebrigtsen, T. Determination of wall tension in cerebral artery aneurysms by numerical simulation. *Stroke*, vol 39, 2008, pp 3172-3178.

Development of a prototype to facilitate the mobility of blind people through object recognition and text to speech technology

I. Sánchez López¹, R. García-Carmona¹, A. Otero¹

¹ Escuela Politécnica Superior, Universidad San Pablo CEU, Madrid, España,
{ignacios196@gmail.com, r.garcia.carmona@gmail.com, abraham.otero@gmail.com}

Abstract

TagIt! is a prototype that enables blind people to get a better understand of their environment. It makes use of a camera, Wi-Fi connectivity and a speaker to capture images of the environment, process them looking for objects and describe such objects to the user using speech. It is presented in a wearable format that can be integrated in a standard white cane or worn.

1. Motivation

According to the World Health Organization (WHO), 285 million people are estimated to be visually impaired worldwide: 39 million are blind and 246 have poor vision [1]. This figure represents more than 3% of the actual worldwide population.

About 90% of the world's visually impaired people live in low-income settings, so they do not usually have access to modern solutions that could help treat or cope with their disability. They must perform their day to day tasks with the only help of a white cane.

The goal of this work is to provide a cheap solution that can improve the mental picture that blind people form of their environment. TagIt! does this by describing in plain language what objects are in front of it. This process is activated by a button that the user can push at will, after pointing at the direction the user wants to get information of. This way, blind people can expand the perception of their surroundings with just the press of a button.

Today's technology allows us to analyze and describe pictures in a couple of seconds, using computer vision and machine learning. These techniques have been proved to be very effective and precise, so we thought that we could use them to help visually impaired people to have a wider feedback of their environment.

2. Characteristics and use of TagIt!

TagIt! has been designed to be attached to a white cane, close to the handle, by using a clamp. It has an external button that the user pushes when he or she wants to know which object the user is facing. The prototype has the following characteristics:

- Dimensions (H x W x D): 43x80x40 mm
- Weight with / without support: 136/116 g
- Micro-USB charging port
- A 5 Mpx camera, to take the photographs
- A speaker, to say out loud the name of the object
- A 2000 mAh battery

TagIt! is a very easy to use device: the user points the white cane to the object he or she wants to tag, presses the button and waits until TagIt! plays aloud the tag assigned to the object that the user is facing.

TagIt! has been designed to be attached to a white cane, so it includes an adapter that can be easily removed if the user wants to move the device, charge it or wear it in a different way. This adapter uses a simple ergonomic screw.

The button is held at the grip level, so it can be easily pressed when needed.

To give the voice a more natural feeling, the chosen TTS (text to speech) technology is Google's Text-To-Speech [2], which recently updated the quality of its voice to deliver a more natural intonation, especially in the English language.

TagIt! connects to the Internet via Wi-Fi, so it can work under a pre-configured Wi-Fi access point or hotspot, which a standard smartphone can provide.

The device is actively waiting for the user input, but only takes photos when instructed. The estimated battery life is roughly 10 hours with an intense use. In idle mode, it can last up to 16 hours. When the battery runs out, the user must charge it using a generic micro-USB charger.

3. TagIt! Specifications & Design

The basic features we needed to build the prototype were: a microprocessor that is powerful enough but does not need too much power, a small but good quality camera and a speaker.

As the computing platform, we chose the Raspberry Pi Zero W [3]. This is an updated version of the well-known Pi Zero, that includes wireless connectivity, such as Wi-Fi and Bluetooth, integrated. The reasons for which we selected this microprocessor instead of other alternatives, such as an Arduino were:

- *Faster CPU*: enables a faster processing of the image and therefore gives the user a better experience.
- *Integrated modules*: unlike the Arduino Micro, the Pi Zero already includes Wi-Fi and Bluetooth, so we can save the space and time needed to work with external modules. The Wi-Fi module was especially important for this prototype, since it provides outwards connectivity.

- *Programming flexibility:* the Pi family of microprocessors are designed to run a light OS based on Linux. This allows us to use different programming languages if we need to. With the Arduino, we are forced to use the limited Arduino programming language.
- *Wider hardware solutions:* the Raspberry family is the most popular single board computers for do-it-yourself projects [4]. Over time, this has led to a massive amount of solutions, that can tackle specific problems.

The camera selected is a 5Mpx camera module for Raspberry Pi Zero from Pimoroni. Originally, a camera system called PIXY [5] was evaluated. This camera has a processing module with the ability to detect objects that have been previously stored in its memory. It uses a color pixel detection mechanism. However, since this camera is sold as a complete computer vision solution, it cannot be easily programmed and customized to perform functions other than those already designed for. The camera module included in PIXY was tried independently and, even when we managed to make it work in Arduino, it proved to be impractical, since data had to be stored in a memory card and another module would be needed to make this possible. Even with the microSD card, Arduino processing speed would have made the system too slow. Finally, we concluded that this camera provided no advantage over a smaller and cheaper camera that does not include the processing module.

In the end, we used a mini IR camera [6] specifically designed for the Raspberry Pi Zero. It has a considerably smaller size than the already presented alternatives. And, since the Raspberry already has a microSD port (the SD card contains the operating system), this media can also be used as the storage space for the images. We don't really need to store the pictures for much time, since they can be overwritten once they are analyzed, but this feature could be used for debugging and troubleshooting purposes. This camera has also the advantage of having a higher resolution than PIXY. On top of that, it doesn't have the infrared (IR) filter installed, so it can see a wider spectrum, which, even if it leads to some distortions of colors under specific

conditions, provides better imaging at low light situations, like dusk, dawn or using streetlights as light source.

The speaker chosen is the Speaker pHAT [7] from Pimoroni. Phats are modules designed for Raspberry that lay over the main board as a "hat" (hence the name), using the GPIO rows both as mechanical support and a way of communication with the main board. Is a solution that allows us to build our system by simply putting the desired "hat" over the microprocessor. Hats can be exchange so the functionality provided can be easily customize.

Since we wanted the prototype to have a reasonable battery life, we added a 2000 mAh LiPo battery. This battery provides us with 10 hours of autonomy, which is more than enough for the desired use of the device. This battery has an output voltage of 3.7 V but the Raspberry Pi and the speaker need 5V, so we used a voltage converter, the Adafruit Powerboost 1000c [8]. Since it is designed to work with batteries, it also contains a charging circuit built-in with a micro-USB charging port.

Finally, we added a physical button, so the user can take a picture of the area he or she wants to know which objects contain. For this aim we used a general on-off switch.

3.1. Implementation

TagIt! has been designed with the Raspberry Pi Zero as its center. It has Raspbian - a Raspberry Pi version of Linux – installed in a microSD card. When powered, Raspbian is booted up and the OS starts running a Python script that runs the desired code, as explained in this section.

First all needed libraries are loaded. Immediately after this it configures the input pin for the button, which in our configuration corresponds to the pin 11. We needed to avoid accessing the pins that were already in use by the speaker, since the Phat modules use several of the GPIO pins, but not all of them.

Then there is an infinite loop that executes the main code that listens to the trigger generated when the button is pressed.

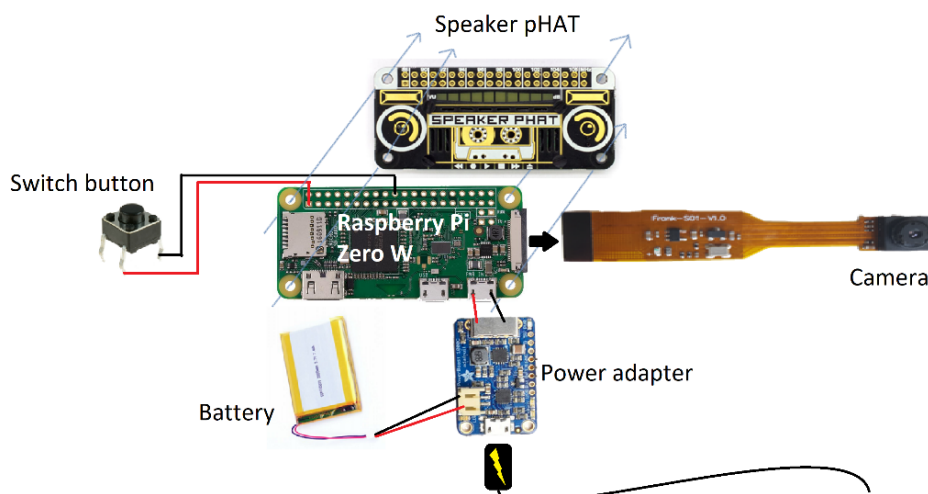


Figure 1. General scheme of TagIt!

When this happens, the code calls the system function “raspistill”, which takes a photograph using the camera that the raspberry has connected. It’s strength lies in the wide

array of configuration parameters, that allows us to easily modify the picture taken: size, quality, rotation, brightness, effects (such as negative), timer, etc. We use some of these to improve the image quality so the objects in it can be more easily recognized.

We put a timer of 1 second to this trigger, to make sure that the camera balances the brightness and contrast before it takes the picture, otherwise the image could be distorted, as the camera has to turn on and adapt to the environment before taken a photograph. We also specify the output of the image, as we want to save it and sent it to an Amazon Web Service (AWS) that provides computer vision on demand.

The service we chose, Rekognition [9], uses computer vision and machine learning to analyze the objects in an image and return the probabilities of different objects being there. We use this function to analyze our images and tell the user what is the most probable object, since that is probably the object the user is facing to.

To do so, we load the image to a bucket in AWS, which is the way documents are stored in the Amazon platform. Then, by calling the aforementioned Rekognition service, we analyze the image and retrieve a list of words with an associated probability, which represents the amount of confidence the system has on the fact that a given element is present in the picture.

For the sake of simplicity and to not overwhelm the user, we extract the name of the most probable element and read it out loud through the speaker. To transform the text into an audio file we use a TTS software designed to read text as similarly as possible to the way a human would do it. In this case we use the Google TTS, the same service Google employs in some popular applications like Google Maps or Google Now.

To use the Google TTS, we must send the object’s name to Google using a link. Then we retrieve from the remote server a sound file corresponding to the word we have just send. Using the mpg123 software [10], a very simple and easy to use tool to reproduce sound files, we are able to reproduce the file from the TTS through the speaker.

All this process takes approximately 6 seconds with a good connection; a reasonable timing for a device like this. Further improvements could reduce the time needed to complete a cycle significantly.

The code developed is available in GitHub [11].

3.2. External design

TagIt! Has been designed to be attached to a standard white cane (although it could be easily adapted to other positions). Therefore, the box that contains the prototype has been adapted to use a support installed in the cane. This will be attached using a screw that can be handled without

additional tools and allows the user to control the tilting. The support can be easily attached and removed from the white cane, but at the same time it will stand firmly fixed.

The box has several openings: one for the camera, another to charge the device, and several smaller holes to let the sound pass through the wall to the exterior. Additionally, the strap is made of flexible rubber, for improved comfort.

Everything has been designed with 3D designing programs and has been built using a 3D printer. Figure 2 and 3 show the box design.

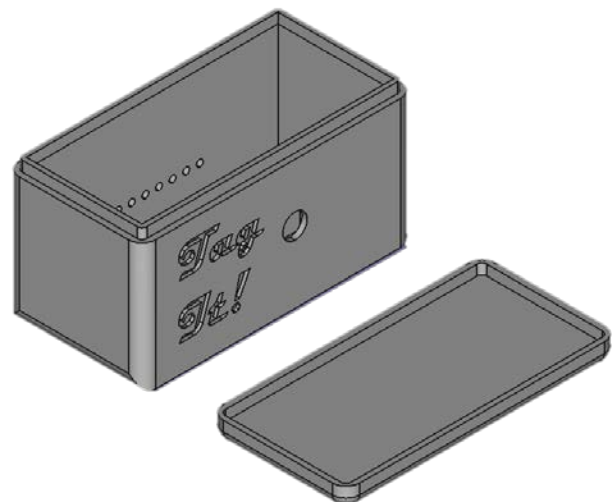


Figure 2. Virtual design of the box

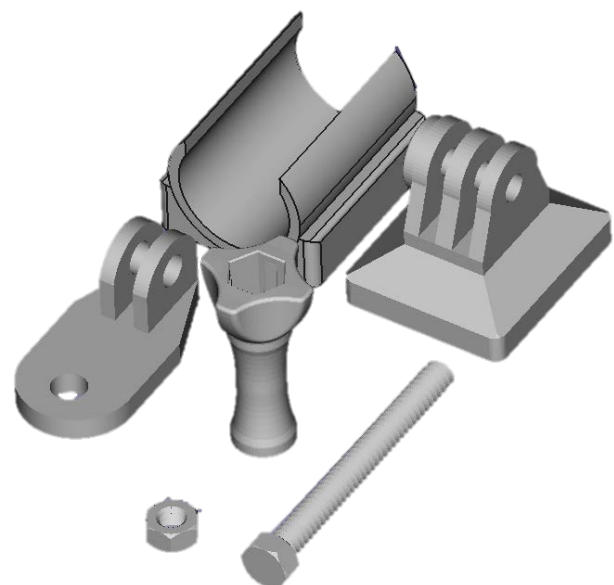


Figure 3. Virtual design of the support

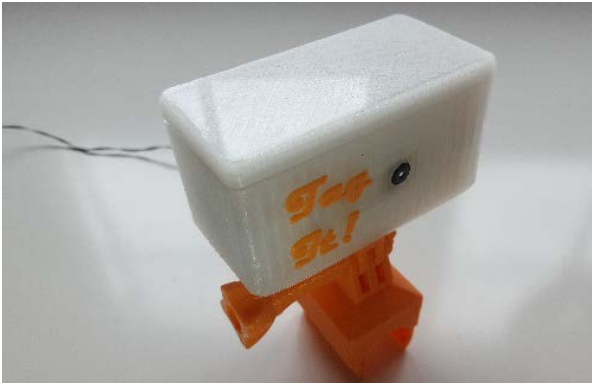


Figure 4. Final design of TagIt!

4. Conclusions

This prototype is a cheap and easy to use tool that attaches to a standard white cane and provides blind people with an improved awareness of their environment.

It is important to note that the user does not need to get rid of the white cane to use the device, something that blind people are not comfortable doing. We also believe that those who currently use a white cane will have no problem getting used to the device, thanks to its simplicity and easy handling. However, we would like to test the prototype with blind people, to better assess the truth of this claim. All in all, TagIt! has the potential to provide an important quality of life improvement to its user.

Acknowledgments

I would like to thank the professors at San Pablo CEU for their help and support in the realization of the project, as they have been crucial for the development of the prototype. Finally, I would like to thank Sarah Rance for her proofreading of this text.

References

- [1] World Health Organization (WHO) web page. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs282/en/> (Revised: October 2017).
- [2] Wikipedia reference on Google's Text-to-Speech. https://en.wikipedia.org/wiki/Google_Text-to-Speech (Revised: October 2017).
- [3] Raspberry Pi Foundation web page, manufacturer of the Raspberry Pi Zero W <https://www.raspberrypi.org/products/pi-zero-w/> (Revised: October 2017).
- [4] Raspberry Pi Foundation explanation of what is a Raspberry Pi <https://www.raspberrypi.org/help/faqs/#introWhatIs> (Revised: October 2017).
- [5] Charmed Labs web page, manufacturer of PIXY cam <http://charmedlabs.com/default/pixy-cmucam5/> (Revised: October 2017).
- [6] Pimoroni shop web page, designer and distributor of the camera <https://shop.pimoroni.com/products/raspberry-pi-zero-camera-module> (Revised: October 2017).
- [7] Pimoroni shop web page, designer and distributor of the phat <https://shop.pimoroni.com/products/speaker-phat> (Revised: October 2017).
- [8] Adafruit web page, manufacturer and distributor of the component <https://learn.adafruit.com/adafruit-powerboost-1000c-load-share-usb-charge-boost/overview> (Revised: October 2017).
- [9] Amazon Web Services (AWS) web page <https://aws.amazon.com/rekognition/> (Revised: October 2017).
- [10] Mpg123 player web page <https://www.mpg123.de/> (Revised: October 2017).
- [11] GitHub link to the code. <https://github.com/nachos196/tagIt> (Revised: October 2017).

Estudio Mediante Simulación de la Influencia de las Mitocondrias en la Dinámica del Calcio en Cardiomiocitos

A. Asensio, J.M. Ferrero

Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería (Ci2B), Universitat Politècnica de València, Valencia, España, {aiasor@etsii.upv.es, cferrero@eln.upv.es}

Resumen

La regulación de calcio intracelular (Ca_i) en cardiomiocitos es crítica debido a su relación con la contractilidad de la célula y la arritmogénesis. Aunque las mitocondrias juegan un papel importante en la regulación de Ca_i , pocos modelos matemáticos del potencial de acción y las corrientes iónicas incluyen estos orgánulos. En el presente trabajo, se han introducido las mitocondrias en un modelo computacional de potencial de acción de cardiomiocito aislado de conejo con el objetivo de estudiar su influencia en la regulación de Ca_i . El modelo incluye un uniportador de calcio, un intercambiador sodio-calcio y un buffer intramitocondrial. Se han llevado a cabo simulaciones en las que se compararon los resultados obtenidos para los biomarcadores de Ca_i en presencia y ausencia de mitocondrias en el modelo. En algunas simulaciones se alteraron ciertas corrientes iónicas para simular el efecto de fármacos o mutaciones en la célula. Nuestros resultados sugieren que la ausencia de mitocondrias en modelos computacionales de potencial de acción introduce errores significativos en la simulación de la regulación de Ca_i , especialmente en condiciones en que las corrientes iónicas están alteradas.

1. Introducción

La regulación calcio intracelular es un proceso clave en los cardiomiocitos [1,2]. Por un lado, modula la contractilidad celular [1] debido a que el calcio intracelular es el principal mecanismo regulador del acoplamiento excitación-contracción miocárdico. Por otro lado, está muy relacionada con la arritmogénesis debido a que una sobrecarga de calcio puede provocar una despolarización anormal de la célula [2,3] e iniciar así una arritmia reentrante. Los cambios temporales de concentración de calcio intracelular ($[Ca_i]$) durante el potencial de acción (PA) son, ciertamente, complejos. Tras la despolarización celular al inicio del potencial de acción, el calcio entra en la célula a través de canales de calcio tipo L. Esto desencadena una liberación masiva de calcio desde el retículo sarcoplásmico (RS) al citosol a través de los receptores de rianodina, un proceso que puede elevar la concentración intracelular de calcio ($[Ca^{2+}]_i$) en casi un orden de magnitud respecto a su valor basal o diastólico. Después del pico de $[Ca^{2+}]_i$ (alcanzando su nivel sistólico), éste desciende más lentamente gracias a su extracción al medio extracelular a través del intercambiador sodio-calcio (NCX) del sarcolema, y también de su recaptación por parte del RS a través de la bomba SERCA [4].

Es sabido que las mitocondrias tienen también un papel fundamental en la regulación de calcio intracelular [4,5]. Las mitocondrias se comportan como un almacén de calcio que puede intercambiar este ion con el citosol, principalmente a través de dos mecanismos de transporte de calcio presentes en la membrana mitocondrial: un uniportador de calcio [7] y un intercambiador sodio-calcio mitocondrial [8].

En las últimas dos décadas, el modelado matemático y la simulación computacional se han convertido en una potente herramienta utilizada para comprender mejor los mecanismos íntimos que explican la electrofisiología celular [9]. Estos estudios computacionales se apoyan en detallados y complejos modelos matemáticos de potencial de acción para diferentes especies animales [10-12], incluyendo modelos humanos [13]. Sin embargo, pocos de estos modelos incluyen una formulación del compartimento mitocondrial y su efecto en las dinámicas del ion calcio. Es más, todavía no existe un conocimiento teórico del error introducido por la ausencia de las mitocondrias en los modelos.

En el presente estudio, se ha introducido un nuevo modelo de las corrientes de calcio mitocondriales en un modelo ya existente de potencial de acción y corrientes iónicas de cardiomiocito ventricular de conejo [12]. Se ha utilizado este modelo integrado para llevar a cabo un análisis de sensibilidad con el objetivo de deducir los mecanismos iónicos que influyen en la regulación de calcio intracelular, tanto en ausencia como en presencia de mitocondrias en el modelo. Los resultados revelan que la ausencia de mitocondria en los modelos de PA “clásicos” introduce errores significativos en las simulaciones que pueden llegar a alcanzar, en algunos casos, el 21%.

2. Métodos

El potencial de acción, dependiente de las corrientes iónicas y de los cambios dinámicos de concentraciones iónicas en un cardiomiocito ventricular de conejo aislado, fue simulado utilizando una versión modificada del modelo de Shannon-Bers [12], que incluye una formulación muy detallada de la dinámica intracelular de calcio. Por un lado, se introdujo una formulación dinámica de la concentración intracelular de potasio (la cual es constante en el modelo original). Por otro lado, se introdujeron en el modelo ecuaciones que describen la influencia de las mitocondrias en la regulación

intracelular de calcio. En concreto, se utilizó el modelo de Kim *et al.* [14] para formular un modelo computacional del uniportador de calcio mitocondrial (I_{uni_mit}), el intercambiador sodio-calcio mitocondrial (I_{NCX_mit}) y el *buffer* de calcio intramitocondrial. Debido a que el modelo de Kim *et al.* se formuló para linfocitos B, los parámetros fueron ajustados a cardiomiocito de conejo utilizando datos experimentales de Lu *et al.* [15]. Las simulaciones se llevaron a cabo utilizando dos modelos diferentes (un modelo sin mitocondrias [modelo *noMit*] y un modelo con mitocondrias [modelo *Mit*]).

Se llevó a cabo un análisis de sensibilidad aplicando varios niveles de variación a las corrientes iónicas del sarcolema y de la membrana del RS. En concreto, cada corriente fue multiplicada por 0.05, 0.5, 1.0 (control) y 2.0 con el objetivo de estudiar su efecto en los biomarcadores de calcio seleccionados. Estos cambios pueden representar el efecto de drogas o mutaciones, o simplemente la variabilidad fisiológica interindividual [16]. Todas las simulaciones se realizaron a 2 Hz y se mantuvieron hasta alcanzar la estabilidad. Los biomarcadores de calcio medidos incluyen el nivel sistólico (CaS) y diastólico (CaD) de $[Ca^{2+}]_i$, la duración del transitorio de Ca^{2+} al 80% de su recuperación (CaTD80) y el tiempo hasta el pico de $[Ca^{2+}]_i$ (CaTTP).

El cálculo de la sensibilidad entre las mayores variaciones de corrientes iónicas y la condición control se llevó a cabo como se explica en [17]. Finalmente, las sensibilidades se normalizaron al máximo absoluto de sensibilidad para cada biomarcador.

3. Resultados y discusión

Previamente a aplicar cualquier cambio a las corrientes iónicas, se llevó a cabo una simulación control utilizando ambos modelos (con y sin mitocondrias). Los resultados, representados en la Fig.1, muestran que la introducción de la mitocondria no cambia de forma notable la forma del PA (panel A) pero induce un ligero cambio en el transitorio de $[Ca^{2+}]_i$ (panel B). El efecto en el CaS es prácticamente insignificante (0.1%), mientras que el CaD aumenta en un 2.6% en el modelo con mitocondria. Respecto a los parámetros de tiempo, CaTD80 y CaTTP descienden un 2.0% y un 1.7%, respectivamente, en el modelo con mitocondria.

Con el objetivo de determinar si estos cambios se ven potenciados en condiciones en que las corrientes iónicas se ven alteradas, se realizó el análisis de sensibilidad mencionado anteriormente. Un ejemplo representativo de $[Ca^{2+}]_i$ se muestra en condiciones control y con un bloqueo casi total del intercambiador NCX del sarcolema ($\times 0.05$). La figura muestra que, al bloquear el NCX, el transitorio de $[Ca^{2+}]_i$ se desplaza hacia arriba. La introducción de las mitocondrias en el modelo reduce esta subida, disminuyendo el CaS en un 9%. Respecto al resto de biomarcadores, el CaD aumenta un 13%, el CaTTP desciende un 20% y el CaTD80 desciende un 4% cuando las mitocondrias están presentes en el modelo. Estos

porcentajes deben entenderse como errores introducidos debido a la ausencia de mitocondria en el modelo.

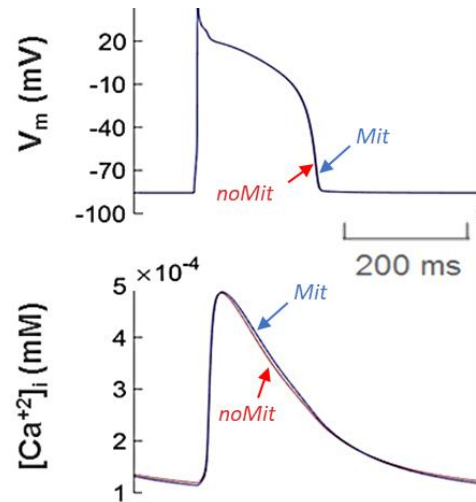


Figura 1. Potenciales de acción (panel superior) y transitorios de calcio intracelular (panel inferior) en presencia y ausencia de mitocondria (*Mit* y *noMit*, respectivamente).

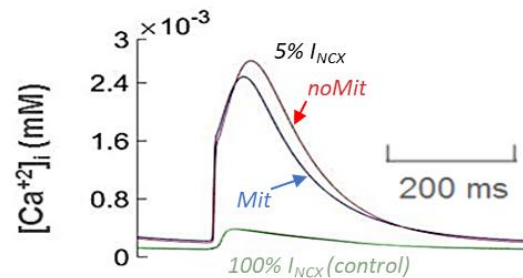


Figura 2. Transitorios de calcio intracelular en presencia y ausencia de mitocondria (*Mit* y *noMit*, respectivamente). Las dos trazas superiores corresponden con un bloqueo del 95% de la corriente del NCX del sarcolema ($0.05 \times INCX$ en el modelo), mientras que las dos trazas inferiores corresponden con simulaciones control ($100\% INCX$).

Los resultados obtenidos en el análisis de sensibilidad fueron posteriormente compilados y se representan en la Fig.3, en la que se muestran los valores de los biomarcadores en el eje Y frente al factor multiplicativo aplicado a la corriente en el eje X para los cuatro biomarcadores medidos. En aras de la claridad, se han representado únicamente los efectos de las tres corrientes que más afectan a cada biomarcador. Las líneas continuas y líneas discontinuas corresponden a los resultados con y sin presencia de mitocondrias en el modelo, respectivamente.

Los resultados muestran que la corriente cuyas variaciones influyen en mayor medida sobre los biomarcadores de calcio es la corriente SERCA, exceptuando en el caso del CaS, donde la corriente del NCX del sarcolema tiene un efecto mayor. Otras corrientes que afectan a los biomarcadores de calcio cuando se ven alteradas son la corriente de calcio tipo L y la corriente de extracción de calcio del RS a través de los canales RyR.

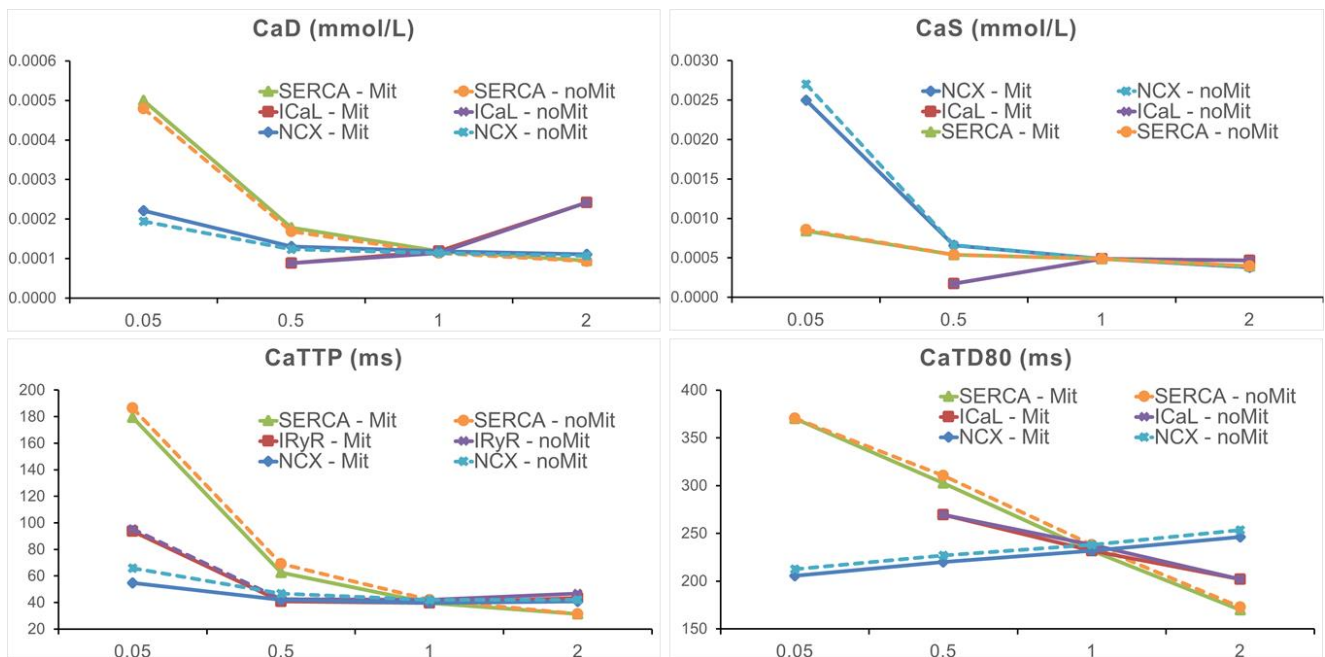


Figura 3. Resultados del análisis de sensibilidad. Cada panel muestra la variación de un biomarcador en función del factor multiplicativo aplicado a las corrientes iónicas. Las líneas discontinuas corresponden con el modelo sin mitocondrias, mientras que las líneas continuas corresponden al modelo que incluye los orgánulos.

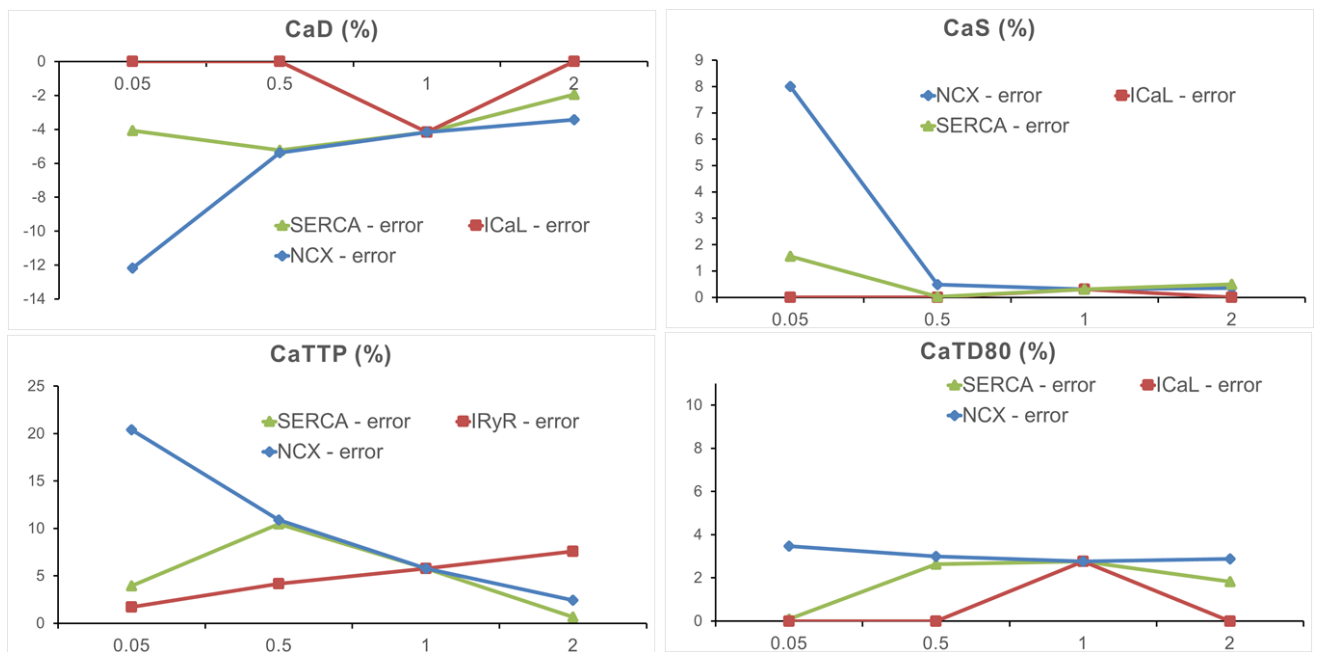


Figura 4. Resultados del análisis de sensibilidad de la Figura 3 mostrados como error relativo entre el modelo con mitocondrias y el modelo sin ellas.

La Figura 4, obtenida a partir de los valores mostrados en la Figura 3, muestra las diferencias entre los modelos con y sin mitocondrias. Estas diferencias se cuantifican como errores relativos, calculados como la diferencia entre los valores del biomarcador en los dos modelos normalizada por el valor del biomarcador en el modelo con mitocondria. Los valores se ofrecen en porcentaje en la figura. Como se observa en las curvas, los errores son particularmente grandes en algunos casos. Por ejemplo, un bloqueo del 95% ($\times 0.05$) de la corriente NCX, por

ejemplo, introduce un error de un 12.1% en el CaD y un error del 21.3% en el CaTTP entre los modelos con y sin mitocondrias. Al bloquear la SERCA, los errores pueden llegar al 5.4% (en el caso de CaD) y al 10.1% (para el CaTTP). Bloqueos y/o potenciaciones de otras corrientes introducen errores menores, como se aprecia en la Figura 4. Entre ellos, el bloqueo de la corriente de calcio a través de los canales tipo L puede causar un error del 2.9% en la CaS.

4. Conclusión

Atendiendo a los resultados, la ausencia de mitocondrias en un modelo computacional de potencial de acción puede introducir errores considerables en el transitorio intracelular de calcio simulado. Estos errores se ven magnificados cuando se alteran las corrientes iónicas y son más elevados bajo condiciones de variación de la corriente NCX del sarcolema y de la SERCA en el RS. Por tanto, la introducción de mitocondrias en los modelos de potencial de acción es altamente recomendable en casos en los que se simule la acción de fármacos y/o mutaciones y siempre que la dinámica intracelular de calcio sea relevante.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Beatriz Carbonell-Pascual por su participación en la génesis del trabajo.

Referencias

- [1] Eisner DA, Caldwell JL, Kistamás K, Trafford AW. Calcium and Excitation-Contraction Coupling in the Heart. *Circ Res.* 2017 Jul 7;121(2):181-195.
- [2] Ter Keurs HEDJ, Boyden PA. Calcium and Arrhythmogenesis. *Physiol Rev.* 2007 Apr; 87(2): 457–506.
- [3] Piacentino V, Weber CR, Chen X, Weisser-Thomas J, Margulies KB, Bers DM, et al. Cellular basis of abnormal calcium transients of failing human ventricular myocytes. *Circ Res.* 2003;92(6):651–8.
- [4] Bers DM, Shannon TR. Calcium Movements Inside the Sarcoplasmic Reticulum of Cardiac Myocytes. *J Mol Cell Cardiol.* 2013 May; 58: 59–66.
- [5] Murgia M, Giorgi C, Pinton P, Rizzuto R. Controlling metabolism and cell death: at the heart of mitochondrial calcium signalling. *J Mol Cell Cardiol.* 2009 Jun;46(6):781-8.
- [6] Bers DM1, Bassani JW, Bassani RA. Competition and redistribution among calcium transport systems in rabbit cardiac myocytes. *Cardiovasc Res.* 1993 Oct;27(10):1772-7.
- [7] Kirichok Y, Krapivinsky G, Clapham DE. The mitochondrial calcium uniporter is a highly selective ion channel. *Nature.* 2004 Jan 22;427(6972):360-4.
- [8] Palty R, Silverman WF, Hershinkel M, Caporale T, Sensi SL, Parnis J, Nolte C, Fishman D, Shoshan-Barmatz V, Herrmann S, Khananshvil D, Sekler I. NCLX is an essential component of mitochondrial Na⁺/Ca²⁺ exchange. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Jan 5;107(1):436-41.
- [9] Trénor B, Romero L, Cardona K, Gomis J, Saiz J, Ferrero JM. Multiscale Modeling of Myocardial Electrical Activity: From Cell to Organ. *Applied Biomedical Engineering*, Dr. Gaetano Gargiulo (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/22907.
- [10] Luo CH, Rudy Y. A model of the ventricular cardiac action potential. Depolarization, repolarization, and their interaction. *Circ Res.* 1991 Jun;68(6):1501-26.
- [11] Decker KF, Heijman J, Silva JR, Hund TJ, Rudy Y. Properties and ionic mechanisms of action potential adaptation, restitution, and accommodation in canine epicardium. 1D simulation study. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2009 Apr;296(4):H1017-26.
- [12] Shannon TR, Wang F, Puglisi J, Weber C, Bers DM. A mathematical treatment of integrated Ca dynamics within the ventricular myocyte. *Biophys J.* 2004 Nov;87(5):3351-71.
- [13] O'Hara T, Virág L, Varró A, Rudy Y. Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: Model formulation and experimental validation. *PLoS Comput Biol.* 2011;7(5).
- [14] Kim B, Takeuchi A, Koga O, Hikida M, Matsuoka S. Pivotal role of mitochondrial Na⁺-Ca²⁺ exchange in antigen receptor mediated Ca²⁺ signalling in DT40 and A20 B lymphocytes. *J Physiol.* 2012 Feb 1;590(3):459-74.
- [15] Lu X1, Ginsburg KS, Kettlewell S, Bossuyt J, Smith GL, Bers DM. Measuring local gradients of intramitochondrial [Ca(2+)] in cardiac myocytes during sarcoplasmic reticulum Ca(2+) release. *Circ Res.* 2013 Feb 1;112(3):424-31.
- [16] Muszkiewicz A, Britton OJ, Gemmell P, Passini E, Sánchez C, Zhou X, Carusi A, Quinn TA, Burrage K, Bueno-Orovio A, Rodriguez B. Variability in cardiac electrophysiology: Using experimentally-calibrated populations of models to move beyond the single virtual physiological human paradigm. *Prog Biophys Mol Biol.* 2016 Jan;120(1-3):115-27.
- [17] Romero L, Carbonell B, Trenor B, Rodríguez B, Saiz J, Ferrero JM. Systematic characterization of the ionic basis of rabbit cellular electrophysiology using two ventricular models. *Prog Biophys Mol Biol.* 2011 Oct;107(1):60-73.

Estudio de las alteraciones en la conectividad funcional cerebral en el contexto del trastorno del espectro autista a partir del análisis de imagen por resonancia magnética funcional

A. Pascual-Belda¹, A. Díaz-Parra¹, D. Moratal¹

¹ Centro de Biomateriales e Ingeniería Tisular, Universitat Politècnica de València, Valencia, España

{ aipasbel@etsii.upv.es, andapar@doctor.upv.es, dmoratal@eln.upv.es }

Resumen

El estudio de la red cerebral en estado de reposo es una poderosa herramienta para avanzar en el conocimiento de una gran variedad de trastornos de tipo neurológico, como el trastorno del espectro autista (TEA), y para esclarecer las bases neurológicas de los mismos. En el presente trabajo, se han estudiado las diferencias en la conectividad cerebral funcional entre un grupo de sujetos con TEA y un grupo de sujetos control, a partir de imágenes de resonancia magnética funcional. En particular, se ha analizado el cerebro desde una perspectiva de red, en la cual éste se divide en regiones discretas o nodos que interactúan entre sí mediante enlaces. La conectividad funcional de ambos grupos se ha estimado mediante el coeficiente de correlación de la señal BOLD para cada par de regiones. Los resultados obtenidos revelan la aparición de subredes en los sujetos con TEA cuyos niveles de conectividad difieren de aquellos vistos en los sujetos control (mayor o menor conectividad, dependiendo de las áreas cerebrales bajo estudio). Los resultados hallados concuerdan con el cuadro clínico del trastorno, y pueden contribuir a sentar las bases neurológicas del mismo, de manera que se puedan desarrollar nuevas aproximaciones clínicas.

1. Introducción

El uso de la resonancia magnética funcional para evaluar el comportamiento de la red cerebral en estado de reposo ha contribuido enormemente a ampliar las posibilidades de estudio de las bases neurológicas de trastornos tales como el TEA, el Alzheimer o la esquizofrenia, entre otros [1]. Más concretamente, la medición de la señal BOLD (*Blood Oxygen Level Dependent*) permite determinar qué áreas cerebrales se activan de manera sincrónica y, mediante la comparación inter-grupo, esclarecer si existen diferencias significativas en la manera en que las distintas regiones cerebrales interactúan entre sí bajo diferentes condiciones neurológicas. El método de aproximación escogido ha sido la teoría de grafos y la ciencia de redes [2], que se basa en la partición del cerebro en distintas regiones o nodos que interactúan entre sí a través de enlaces. A nivel macroscópico, el cerebro puede ser dividido en las distintas regiones de interés atendiendo a criterios o bien anatómicos o bien funcionales. Por otro lado, los enlaces entre dichas regiones estarán determinados por la conectividad funcional entre las mismas.

Para el estudio de las alteraciones en la conectividad funcional es de relevancia la extracción de subredes cerebrales (grupos de regiones conectadas entre ellas y entre las que se puede apreciar una diferencia significativa

en la conectividad entre ambos grupos), en las cuales quedan reflejados los patrones de conectividad característicos de dichos trastornos [3].

El trastorno del espectro autista (TEA) es una afección neurológica cuya prevalencia se ha visto enormemente incrementada en los últimos años, hecho probablemente vinculado a las mejoras en la metodología diagnóstica, pero que no por ello deja de resultar alarmante. Este incremento de la prevalencia obliga a buscar nuevos enfoques que permitan alcanzar la comprensión del trastorno, para desarrollar nuevas terapias que minimicen las disfuncionalidades que conlleva el padecimiento del mismo [4].

Existen dos grandes patrones de comportamiento asociados al TEA: por una parte, los déficits en la comunicación e interacción social; por otra, los intereses, actividades y comportamientos muy restringidos y repetitivos [5]. Se desconoce cuáles son las causas que originan la aparición del trastorno, aunque se considera uno de los trastornos del neurodesarrollo con un mayor componente de heredabilidad. Otros factores de riesgo identificados con frecuencia en niños con TEA son la diabetes gestacional materna, o una edad de los padres superior a 25 años en el momento del nacimiento [6].

En el presente trabajo, se compararán las diferencias existentes en los patrones de conectividad cerebral funcional entre sujetos afectados por el TEA y sujetos sanos, o control, a partir del estudio de las fluctuaciones espontáneas de la señal BOLD, que tienen lugar en estado de reposo. En caso de encontrarse dichas diferencias en la conectividad, se tratará de dotarlas de significado clínico, para intentar establecer una relación entre los resultados obtenidos y el cuadro clínico del trastorno.

2. Materiales y métodos

2.1. Obtención de los datos: base de datos de ABIDE

Las neuroimágenes de resonancia magnética funcional utilizadas en el presente estudio han sido obtenidas a partir de la base de datos de ABIDE (*Autism Brain Imaging Data Exchange*). ABIDE es una iniciativa que ha creado un banco abierto de neuroimágenes que permitan estudiar el TEA, con la intención de contribuir al análisis y entendimiento del trastorno desde el punto de vista neurológico [7].

Aunque la base de datos de ABIDE está formada por una colección de imágenes perteneciente a 1112 individuos, en este trabajo se ha hecho uso del subconjunto de datos de la *New York University*, dado que proporcionaba una cantidad adecuada de imágenes para realizar los análisis pertinentes y extraer posibles conclusiones significativas. Este subconjunto está conformado por 183 individuos, de los cuales 79 son sujetos con TEA y 104 son sujetos sanos o controles.

La base de datos ofrece las imágenes ya preprocesadas de acuerdo a distintos *pipelines*, de entre los cuales se ha escogido la estrategia de preprocesado CCS (*Connectome Computation System*) [8]. Esta estrategia consta de un preprocesado estructural, seguido de un preprocesado funcional de la imagen. De este último, conviene destacar la aplicación de la regresión global de la señal (GSR), que contribuye a reducir el ruido fisiológico, y de un filtro paso banda entre 0.01 y 0.1 Hz, dado que en este ancho de banda se localizan la mayor parte de las fluctuaciones espontáneas de la señal BOLD, objeto de interés del presente estudio.

La aplicación de la GSR es objeto de controversia. Esta etapa induce la aparición de correlaciones negativas que resultan difícilmente interpretables por parte de la comunidad científica, dado que todavía no se conocen en profundidad los mecanismos que rigen las fluctuaciones de baja frecuencia de la señal BOLD, y su relación con la actividad neurológica asociada [9]. Por este motivo, los resultados obtenidos deben ser interpretados con cautela.

La base de datos de ABIDE proporciona además diversas parcelaciones cerebrales en base a criterios anatómicos y/o funcionales. En este caso, se ha escogido trabajar con el atlas AAL (*Automated Anatomical Labeling*), basado en una parcelación estructural del encéfalo en 116 regiones.

2.2. Construcción de las matrices de conectividad

Para poder realizar los análisis de conectividad pertinentes, en primer lugar se han extraído las matrices de conectividad. Las matrices de conectividad son una serie de matrices cuadradas, que reflejan la conectividad entre cada par de nodos o regiones cerebrales, para cada uno de los individuos.

Para evaluar la conectividad funcional entre cada par de regiones cerebrales, se ha extraído el coeficiente de correlación de Pearson entre las señales BOLD. Esta medida de conectividad puede tomar valores en el intervalo $[-1,1]$, considerando una interacción mayor entre dos regiones cuanto más positivo sea este coeficiente. Tras extraer los valores de correlación para cada par de regiones cerebrales y para cada uno de los sujetos, dichos valores han sido normalizados a valores z-Fisher [10].

En la Figura 1 se pueden observar las matrices de conectividad media para cada uno de los grupos del estudio (sujetos con TEA y sujetos control). El conjunto de matrices de conectividad de cada uno de los grupos ha sido utilizado como entrada a la *toolbox* (sección 2.3) mediante la cual se han analizado los datos, y a partir de ellas se han evaluado las diferencias en la conectividad funcional entre

ambos grupos, y se ha determinado si estas son o no significativas.

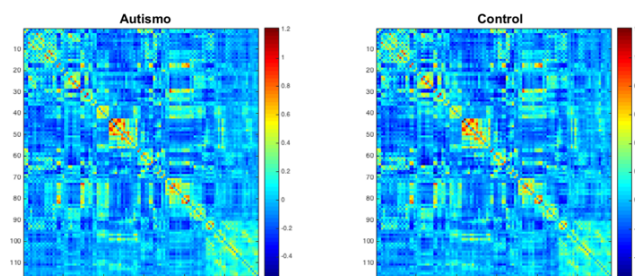


Figura 1. Matrices de conectividad media para los grupos autista y control. La conectividad viene representada por el coeficiente de correlación, transformado a valores z-Fisher, codificados en el lateral mediante una barra de colores que representa las correlaciones más fuertes o positivas en colores cálidos, y las correlaciones negativas o anticorrelaciones en colores fríos.

2.3. Obtención y análisis de las subredes

Para la extracción de las subredes significativas (agrupaciones topológicas de regiones interconectadas de manera significativamente distinta entre ambos grupos), se ha utilizado la *toolbox* para Matlab *Network Based Statistic Toolbox v1.2 (NBS Toolbox)* [11]. Esta *toolbox* ha sido específicamente diseñada para testear hipótesis sobre el conectoma y buscar diferencias en la conectividad o bien inter-grupo, o bien asociadas a un determinado efecto experimental.

En primer lugar, se testea la hipótesis de interés (mayor o menor conectividad en sujetos con TEA) en cada una de las conexiones, y se extrae un valor asociado a dicho test (t), que refleja la evidencia a favor de la hipótesis nula. Este valor se compara con un umbral (t -threshold=3.5). Las conexiones que superen dicho umbral serán las susceptibles de mostrar diferencias significativas entre los dos grupos.

A continuación, se extraen *clusters* topológicos, es decir, regiones que muestran una diferencia en la conectividad inter-grupo a nivel de conjunto. Finalmente, se computa un p-valor sobre cada uno de estos *clusters*, y se compara con un valor umbral (p -valor=0.05). De esta manera, se considerará que las regiones pertenecientes a un determinado *cluster* forman una subred cuya conectividad difiere significativamente entre ambos grupos si el p -valor obtenido es menor al fijado como umbral.

Tras la extracción de las correspondientes subredes, se ha utilizado la *toolbox*, también para Matlab, *BrainNet Viewer* [12], mediante la cual se han generado las distintas visualizaciones de dichas subredes para facilitar su posterior análisis.

3. Resultados y discusión

Por una parte, se han hallado tres subredes cerebrales que muestran una conectividad significativamente incrementada en el caso de los sujetos con TEA. En la Figura 2 se puede observar un diagrama Box and Whiskers que compara la conectividad entre los sujetos de ambos grupos.

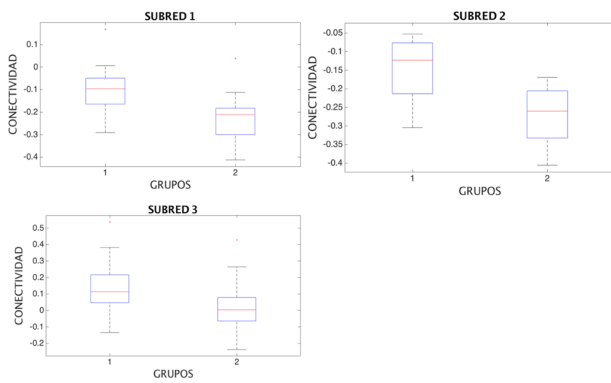


Figura 2. Diagramas Box and Whiskers de las tres subredes obtenidas. Para cada subred, se representa la conectividad del grupo 1 (sujetos con TEA) y la conectividad del grupo 2 (sujetos control).

Mediante la *toolbox BrainNet Viewer* han sido representadas cada una de las tres subredes (Figura 3), de manera que se puede observar entre qué regiones cerebrales se da dicho incremento en la conectividad.

HIPERCONECTIVIDAD EN TEA

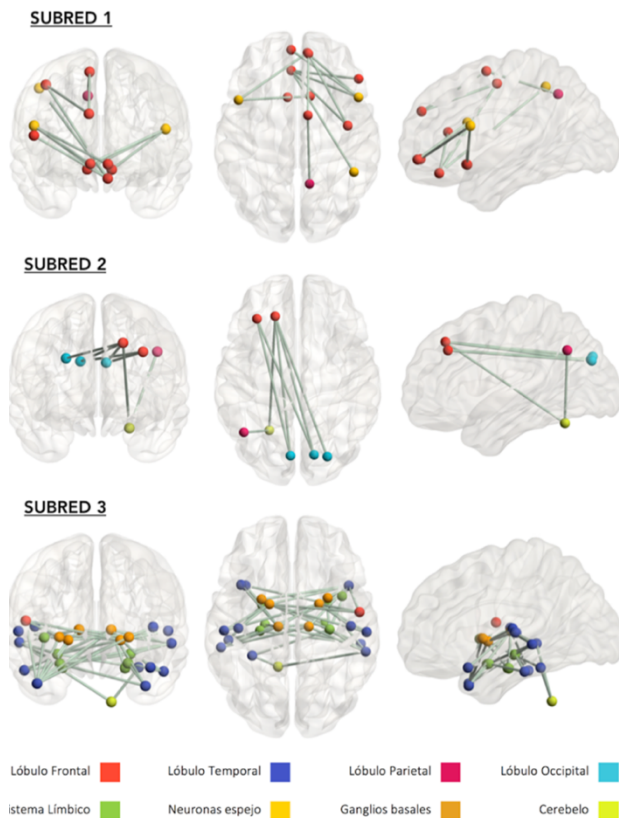


Figura 3. Representación de las tres subredes que muestran hiperconectividad en TEA. De izquierda a derecha, cortes coronal, axial y sagital del cerebro.

La primera de las tres subredes halladas exhibe una elevada interacción entre las áreas del lóbulo frontal y el sistema de neuronas espejo. La activación de dichas áreas está fuertemente vinculada a la identificación y comprensión de las emociones y estados de ánimos ajenos, así como procesos cognitivos de alto nivel relacionados con la

gestión de las emociones y sentimientos [13], dos aspectos fundamentales en el patrón de comportamiento del TEA.

Con respecto a la segunda subred encontrada, fundamentalmente involucra regiones de los lóbulos frontal y occipital, y más concretamente, las cuñas izquierda y derecha del lóbulo occipital, y el giro frontal superior y medio. De entre las funciones atribuidas a dichas regiones, destacan el procesamiento visual básico, la conciencia del propio individuo, o la memoria de trabajo y la capacidad de procesamiento espacial [14].

En la tercera y última subred hallada predominan regiones procedentes del lóbulo temporal, los ganglios basales y el sistema límbico. Una de las regiones más destacadas que se halla en la subred es el giro temporal medio, que se considera involucrado en procesos relacionados con el reconocimiento facial. Además, resulta reseñable que esta región aparece completamente desconectada del lóbulo occipital, encargado de recibir y procesar los estímulos visuales, y del lóbulo frontal, que procesa la información de modo más racional y la compara con el conocimiento previo [15].

Sin embargo, esta área sí se encuentra fuertemente relacionada con los ganglios basales y el sistema límbico, ambas áreas muy importantes en la gestión de procesos clave en el patrón de comportamiento autista, tales como la actividad motora en el caso de los ganglios basales, cuya alteración provoca movimientos hipercinéticos y repetitivos [16], y la gestión de las emociones, en el sentido más instintivo, en el caso del sistema límbico.

Además, también muestran una elevada conectividad en la subred los polos temporales izquierdo y derecho, asociados con la dotación de significado semántico a los estímulos auditivos [17]. La alteración en la conectividad a nivel de dichas regiones podría explicar las complicaciones en la interacción social que aquejan a los individuos con TEA.

Por otro lado, también se han hallado dos subredes cerebrales que muestran unos niveles de conectividad significativamente disminuidos en el caso de los sujetos con TEA, con respecto a los sujetos control. En la Figura 4 se pueden observar los diagramas Box and Whiskers que comparan la conectividad entre ambos grupos.

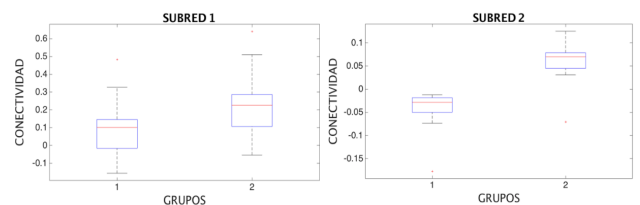


Figura 4. Diagramas Box and Whiskers de las dos subredes obtenidas. Para cada subred, se representa la conectividad del grupo 1 (sujetos con TEA) y la conectividad del grupo 2 (sujetos control).

La Figura 5 muestra las dos subredes donde tiene lugar una menor conectividad en sujetos con TEA.

HIPOCONECTIVIDAD EN TEA

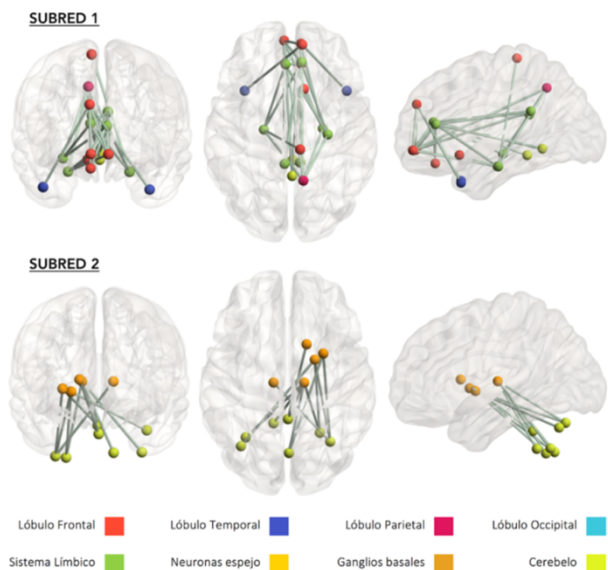


Figura 5. Representación de las dos subredes que muestran hipoconectividad en TEA. De izquierda a derecha, cortes coronal, axial y sagital del cerebro.

En la primera de las dos subredes halladas, se observa una mayor conectividad en los sujetos sanos entre regiones pertenecientes al sistema límbico y el lóbulo frontal. Destaca en esta subred el córtex orbitofrontal, implicado en procesos de toma de decisiones en base a estímulos de tipo recompensa/castigo y, por tanto, muy vinculado a la respuesta emocional. La disrupción de las conexiones a nivel del córtex orbitofrontal tienen como resultado la alteración de funciones cognitivas, emocionales y de comportamiento [18].

Finalmente, la última subred obtenida muestra una elevada conectividad en sujetos control entre nodos pertenecientes a los ganglios basales y el cerebelo, sendas áreas relacionadas con el control del movimiento. Las anomalías en la conectividad del sistema motor podrían estar intensamente relacionadas con la disfunción motora observada en los sujetos afectados por el TEA, manifestada en dificultades en la planificación y ejecución de los movimientos [19].

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos sugieren que el conectoma de los sujetos con TEA refleja la combinación entre las hipótesis de hiperconectividad e hipoconectividad cerebral. No obstante, estos se deben interpretar con cautela, dada la controversia que suscita la aplicación de GSR en el preprocesado. En el presente trabajo, las correlaciones negativas han sido interpretadas como un indicio de menor grado de interacción entre regiones cerebrales.

En conclusión, el análisis de las subredes que neurológicamente se encuentran conectadas de un modo distinto entre aquellos sujetos afectados por el trastorno y los sujetos control permite ahondar en el establecimiento de las bases neurológicas que rigen el TEA, lo que puede contribuir a su mejor entendimiento y al desarrollo de

terapias específicas que permitan minimizar las dificultades que deben afrontar estos pacientes.

Referencias

- [1] Friston, K. Functional integration and inference in the brain. *Prog. Neurobiol.*, 68(2), pp. 113-143, Oct. 2002.
- [2] Heufel (van den), M. et al. Exploring the brain network: a review on resting-state fMRI functional connectivity. *European Neuropsychopharmacology*, 20(8), pp. 519-534, 2010.
- [3] Nayate, A. et al. Autism and Asperger's disorder: are they movement disorders involving the cerebellum and/or basal ganglia? *Brain Research Bulletin*, 67(4), pp. 327-334, 2005.
- [4] Fombonne, E. The epidemiology of autism: a review. *Psychological Medicine*, 29(4), pp. 769-786, 1999.
- [5] Baron-Cohen, S. et al. Does the autistic child have a 'theory of mind'? *Cognition*, 21(1), pp. 37-46, 1985.
- [6] Gardener, H. et al. Perinatal and neonatal risk factors for autism: a comprehensive meta-analysis. *Pediatrics*, 128(2), pp. 700-711, 2011.
- [7] Craddock, C. et al. The Neuro Bureau Preprocessing Initiative: open sharing of preprocessed neuroimaging data and derivatives. *Frontiers in Neuroinformatics*, 7, 2013.
- [8] Zuo X. et al. CCS: A Connectome Computation System for discovery sciences. *Frontiers in Neuroinformatics*, 8, 2014.
- [9] Murphy, K. et al. The impact of global signal regression on resting-state correlations: are anti-correlated networks introduced? *Neuroimage*, 44(3), pp. 893-905, 2009.
- [10] Yan C. et al. A comprehensive assessment of regional variation in the impact of head micromovements on functional connectomics. *Neuroimage*, 76, pp. 183-201, 2013.
- [11] Zalesky, A. et al. Network-based statistic: identifying differences in brain networks. *Neuroimage*, 53(4), pp. 1197-1207, 2010.
- [12] Xia M. et al. BrainNet Viewer: a network visualization tool for human brain connectomics. *PLoS ONE* 8: e68910, 2013. Toolbox accesible en: <https://www.nitrc.org/projects/bnv>
- [13] Oberman, L. et al. EEG evidence for mirror neuron dysfunction in Autism Spectrum Disorders. *Cognitive Brain Research*, 24(2), pp. 190-198, 2005.
- [14] Boisgheueuc, F. et al. Functions of the left superior frontal gyrus in humans: a lesion study. *Brain*, 129(12), pp. 3315-3328, 2006
- [15] Dawson, G. et al. Understanding the Nature of Face Processing Impairment in Autism: Insights from Behavioral and Electrophysiological Studies. *Developmental Neuropsychology*, 27(3), pp. 403-424, 2005.
- [16] Duke University. Researchers pinpoint brain structure that links environmental cues to enhanced focus, 2017. Recuperado el 5 de junio de 2017, a partir de: <http://www.psypost.org/2017/01/researchers-pinpoint-brain-structure-links-environmental-cues-enhanced-focus-47127#prettyPhoto>
- [17] Tsapinki, K. et al. The function of the left anterior temporal pole: evidence from acute stroke and infarct volume. *Brain*, 134(10), pp. 3094-3105, 2011.
- [18] Kringsbach, M. L. The orbitofrontal cortex: linking reward to hedonic experience. *Nature Reviews Neuroscience*, 6, pp. 691-702, 2005
- [19] Nayate, A. et al. Autism and Asperger's disorder: are they movement disorders involving the cerebellum and/or basal ganglia? *Brain Research Bulletin*, 67(4), pp. 327-334, 2005.

Comparación de diferentes técnicas de segmentación de células en cultivos neuronales

Llucia Coll¹, Azahara Civera-Tregón^{3,4}, Janet Hoenicka³, Francesc Palau^{4,5}, Raúl Benítez^{1,2}

¹Departamento de Ingeniería de Sistemas, Automática e Informática Industrial, Universidad Politècnica de Catalunya, Barcelona, España, raul.benitez@upc.edu, ² Centro de Investigación en Ingeniería Biomédica, CREB-UPC,

³Neurogenética y Medicina Molecular, Instituto de Investigación Sant Joan de Déu, Barcelona, ⁴CIBERER, Barcelona,

⁵División de Pediatría, Universidad de Barcelona

Resumen

Durante la sinapsis neuronal tienen lugar una serie de fluctuaciones de la concentración de calcio en el citosol de las neuronas. Para poder estudiar estas fluctuaciones es necesario identificar las diferentes estructuras que se observan en cultivos neuronales como somas, neuritas y ramificaciones secundarias. En este estudio comparamos diferentes métodos de segmentación y estimación del volumen de las diferentes regiones que forman un cultivo neuronal. En particular, se comparan dos métodos de segmentación con diferentes variaciones: el cálculo de mínimas distancias euclídeas y de fracciones direccionales.

1. Introducción

Las neuronas son células excitables y como tales tienen la capacidad de generar un potencial de acción al ser estimuladas por encima de un cierto umbral de excitación. Durante la despolarización neuronal, se abren los canales de calcio aumentando la concentración de este en el citosol de la célula. Para poder cuantificar fenómenos de dinámica de calcio en cultivos de neuronas es necesario utilizar técnicas de segmentación que permitan identificar las neuronas y sus correspondientes subestructuras.

La segmentación celular a partir de imágenes de fluorescencia supone un reto debido a la falta de definición del contorno de las neuronas en cada imagen individual. Es necesario por tanto disponer de una secuencia de imágenes de fluorescencia para poder identificar.

En la actualidad, existen muchos enfoques de como segmentar y extraer regiones de interés de imágenes, sean médicas o no, ya que son los elementos básicos de procesamiento de imagen para poder realizar un análisis de extracción de características. Por lo que se sabe, no hay ninguna línea definida que pueda separar las partes que forman las neuronas, por lo que no se puede afirmar que exista un método óptimo para la segmentación de las mismas. En este contexto, el presente trabajo realiza un estudio comparativo de técnicas de segmentación de la literatura más reciente.

2. Materiales y métodos

El estudio analiza cuatro secuencias de vídeo obtenidos a partir de microscopía confocal de fluorescencia de cultivos neuronales bajo estimulación externa. La frecuencia de muestreo es de 7 fotogramas por segundo y para la tinción de la muestra se ha utilizado el indicador fluorescente de calcio Fluo-4, caracterizado por una elevada intensidad de emisión de fluorescencia incluso en bajas concentraciones.

De las secuencias se extraen los fotogramas y se proyectan en tres imágenes representativas de la secuencia experimental: la imagen media *Imed*, la imagen desviación estándar *Istd* y la imagen máxima *Imax*, sobre las que se aplicarán diferentes técnicas de segmentación.

A dichas imágenes representativas se les aplican diferentes técnicas de binarización por umbral y a la imagen binaria resultante se le aplican diferentes métodos de segmentación.

Las imágenes originales son convertidas a escala de grises y pre-procesadas mediante una mejora de contraste basada en re-histogramación. Posteriormente, se eliminará el ruido persistente mediante la eliminación de las regiones de píxeles conexas de menor tamaño, como se puede apreciar en la Figura 1.

La imagen binaria resultante es segmentada utilizando dos técnicas de la literatura reciente [3,4] que permiten identificar las diferentes subestructuras celulares como el soma, neuritas y las ramificaciones de las neuritas. A continuación se detallan cada una de las dos técnicas de segmentación.

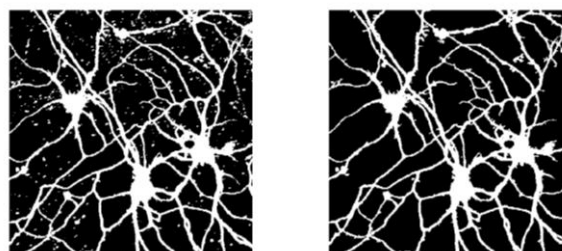


Figura 1. Imagen binaria con y sin ruido asociado a regiones conexas de pequeño tamaño

2.1. Mínimas distancias euclídeas

La primera técnica de segmentación es conocida como método de segmentación por mínimas distancias euclídeas, una aproximación en 2D de la técnica utilizada en un estudio reciente [3]. Esta está basada en la diferencia de grosor de las diferentes partes, estimada a partir de la distancia normal entre puntos cercanos de ambos lados de la membrana permitiendo distinguir entre estructuras con una mayor distancia promedio (suma) de otras con un grosor más reducido (axón, neuritas).

En primer lugar, se obtiene el gradiente para detectar el contorno de la neurona y definir un vector normal en cada punto del contorno, cuya dirección determinará la orientación seguida para establecer el segundo punto necesario para el cálculo de las distancias. El operador Sobel con tamaños 3x3 y 5x5 es utilizado para obtener el gradiente, mediante la convolución con la imagen en cuestión y obteniendo dos resultados distintos.

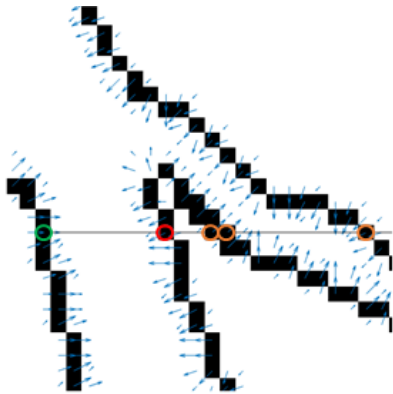


Figura 2. Magnitud (contorno) y dirección (vector) del gradiente. Recta trazada para el cálculo de distancia.

El algoritmo desarrollado para la búsqueda de los puntos está descrito en la Figura 2 y consiste en trazar una recta desde cada punto del contorno (círculo verde) en la dirección del gradiente local. De todos los puntos de intersección entre la recta y los contornos del cultivo (círculos naranja), se elige el más cercano al punto original (círculo rojo). A continuación se determina la distancia euclídea entre ambos puntos y se utiliza como estimador del grosor local de la subestructura.

A partir del histograma de distancias, los valores más elevados se asignan a el soma y los inferiores a estructuras más estrechas (Figura 3). Posteriormente, se realiza una reconstrucción morfológica de las estructuras con el objetivo de crear las diferentes máscaras de las regiones de interés (ROI).

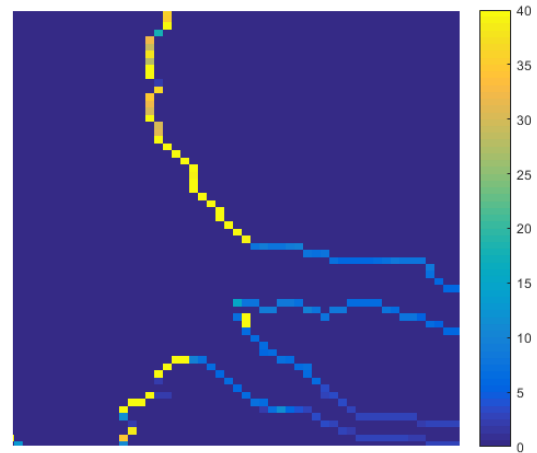


Figura 3. Distribución de las distancias euclídeas

2.2. Fracciones direccionales

El segundo método para esta estimación es el llamado Fracción Direccional [4], basado en la cuantificación del grado de isotropía local de una imagen, dada una cierta escala y localización. Estas, definen los diferentes filtros generados con que se convoluciona la imagen, en este caso los representados en la Figura 4.

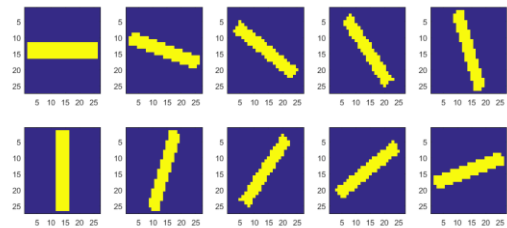


Figura 4. Conjunto de filtros utilizados en la convolución

El cociente entre la mínima y máxima de las convoluciones es la definición de esta ratio direccional

$$D_j f(p) = \frac{\min_l [|f * \varphi_{j,l}(p)|]}{\max_l [|f * \varphi_{j,l}(p)|]}$$

El valor atribuido al grado de isotropía, ratio direccional (representado en la Figura 5), es el que determina la clasificación, siendo el más próximo a 1 el perteneciente a estructuras más grandes y uniformes, en este caso los somas.

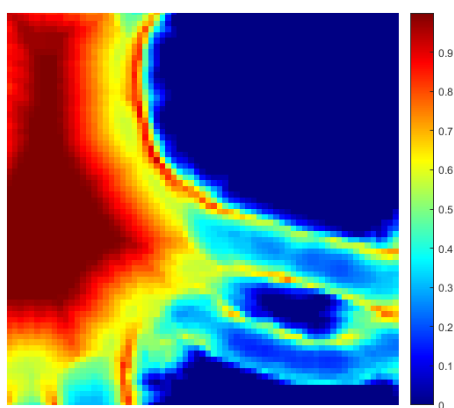


Figura 5. Distribución espacial de las fracciones direccionales

En este caso, para construir la máscara que determina las ROIs, se utiliza el método de Fast Marching [4,5], haciendo crecer las detecciones según el mapa de velocidades definido por la misma ratio direccional.

3. Resultados y discusión

3.1. Validación

Para la validación de cada combinación de métodos se utiliza el *Dice Similarity Coefficient* (DSC) [6], que cuantifica el rendimiento de la segmentación a partir del cálculo de solapamiento entre la imagen segmentada y una de referencia validada.

En la Figura 6, se pueden observar dos cálculos de DSC para la misma referencia validada. En el primer caso, se trata de la imagen media, segmentada con el método Otsu y aplicando fracciones direccionales (DSC=0.8671); la segunda, la imagen desviación estándar, segmentada con el método Bradley y aplicando mínimas distancias con un Sobel 5x5 (DSC=0.7029).

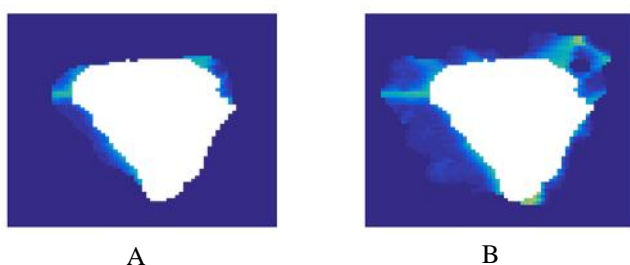


Figura 6. Aplicación del Dice Similarity Coefficient en diferentes segmentaciones para el mismo soma. A) DSC=0.8671. B) DSC= 0.7029

En la Tabla 1 se puede observar la media de los mejores resultados para la segmentación de somas. A partir de estos, se observa que las combinaciones realizadas con la imagen media Imed presentan mejores valores en

comparación con los de la imagen variabilidad Istd (DSC 78.36% - 76.28%). Ambos valores, así como en la mayoría de los valores de DSC para las diferentes combinaciones, son superiores a 0.7, mínimo valor aceptado en imágenes médicas [7].

Método	DSC	Std(DSC)	CPU time(s)
Imed+Ostu+d5	0.7411	0.0014	185.8139
Imed+Otsu+d3	0.7408	0.0003	112.0339
Imed+Otsu+FD	0.7836	0.0046	8.2347
Istd+Otsu+FD	0.7628	0.0074	1.3990

Tabla 1. Resultados con mayor DSC promedio para las diferentes técnicas de segmentación (FD: Segmentación por fracciones direccionales, d3/d5: segmentación por distancias con gradiente calculado con un filtro Sobel de tamaño 3x3 o 5x5)

La imagen máxima Imax, ha sido descartada de la comparación en la parte de preprocesado de la imagen al presentar una persistencia de ruido demasiado relevante.

La binarización por Otsu presenta un mejor rendimiento general que la de Bradley (DSC 78.36% vs. 75.86%), debido principalmente a que ésta última incrementa la variabilidad de los resultados entre diferentes experimentos en un 14.3%.

También observamos que la utilización de un operador Sobel 3x3 en el cálculo del gradiente reduce la variabilidad entre experimentos (0.03%), con respecto a la utilización de un filtro Sobel 5x5 (0.14%).

De forma general, el uso de fracciones direccionales proporciona mejores resultados frente a las distancias euclídeas (78.36% vs. 74.06%), así como un tiempo considerablemente menor de CPU (8.23s – 112.03s) debida a la simplicidad de ejecución del algoritmo.

Algunos ejemplos de la segmentación de somas son los representados en la Figura 7, en la que se pueden apreciar las diferencias existentes entre diferentes secuencias experimentales.

Por lo que respecta a la parte de detección de las estructuras más finas como neuritas y otras ramificaciones, presenta una mayor eficacia el método de segmentación por distancias euclídeas respecto a las fracciones direccionales, ya que cuanto más delgada es una estructura más difícil es calcular la isotropía local.

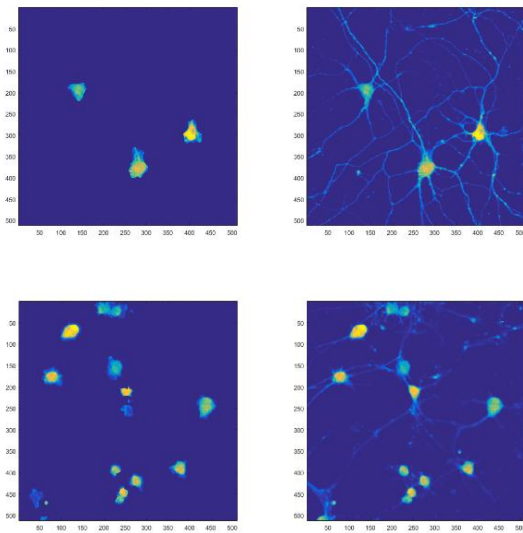


Figura 7. Ejemplos de la segmentación de somas con sus respectivas imágenes representativas de procedencia.

4. Conclusiones

La separación de un cultivo neuronal en sus diferentes partes es una tarea que a menudo se realiza de forma subjetiva al no existir suficientes características morfológicas para caracterizar el soma y distinguirlo de neuritas y ramificaciones. A pesar de las limitaciones en el número de experimentos analizados, la conclusión principal de este estudio es que la mejor forma de segmentar subestructuras neuronales en cultivos de neuronas consiste en aplicar un umbral global (Otsu) a la imagen media *Imed* y aplicar el método de mínimas distancias euclídeas para detectar las diferentes regiones de interés del cultivo. Si el objetivo es, en cambio, detectar los somas y limitar el tiempo de procesado, la opción más adecuada es aplicar el método de fracciones direccionales.

Referencias

- [1] Otsu, N. A threshold selection method from gray-level histograms. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics*, vol 9(1), pp 62-66, 1979.
- [2] Bradley, D., Roth G. Adaptive thresholding using the integral image. *Journal of Graphics Tools*, vol 12(2), pp 13-21, 2007.
- [3] Luengo-Sanchez S, Bielza C, Benavides-Piccione R. A univocal definition of the neuronal soma morphology using Gaussian mixture models. *Front. Neuroanat*, vol 9(137), 2015.
- [4] Kayasandik C.B, Labate D. Improved detection of soma location and morphology in fluorescence microscopy images of neurons. *Journal of Neuroscience Methods*, vol 274, pp 61-77, 2016.
- [5] Sethian, J.A. *Level Set Methods and Fast Marching Methods*, 2nd edition. Cambridge University Press, 1999.
- [6] Warfield S.K, Zou, K.H. Statistical validation of image segmentation quality based on a spatial overlap index. *Acad. Radiol.*, 11(2), pp 178-189, 2004.

- [7] Dawant B.M, Margolin R.A, Palmer A.C, Zijdenbos, A.P. Morphometric analysis of white matter lesions in mr images: method and validation. *IEEE Trans Med Imagin*, pp 716-724, 1994.

3D Bioprinted muscle on a chip

A. Esteban Tezanos^{1,2}, M. Badiola Mateos^{1,2}, J. Samitier Martí^{1,2,3*}

¹Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC) - Barcelona Institute of Science and Technology, Barcelona, Spain

²University of Barcelona, Barcelona, Spain

³Centre for Networked Biomedical Research (CIBER-BBN and CIBER-NED), Madrid, Spain

* Correspondence should be addressed to: jsamitier@ibecbarcelona.eu

Abstract

*Organs-on-a-chip enable good mimicking of pathophysiological conditions, multicellular architecture, tissue-tissue interfaces and physicochemical microenvironments in 2D and 3D. Skeletal muscle has a unique 3D structure that facilitates contraction. Biochemical, mechanical and electrical stimuli enable the differentiation of muscle cells into myocytes. However, its functionality highly depends on the microenvironment. The purpose of this project was to replicate muscle fibre mimicking physiological conditions through 3D bioprinting method in combination with cell-laden hydrogels and sacrificial moulding techniques. We first optimised the differentiation of C2C12 mouse myoblast into myocytes through biochemical stimuli and performed a viability test embedding cells in different combinations of ECM composites (Collagen I, Matrigel, and alginate). The optimal ECM composition was used to bioprint a muscle fibre. The results show the survival of myoblasts to printing process and adequate proliferation and differentiation afterwards. On the other hand, C2C12 myoblasts were transduced with a lentivirus containing Channelrhodopsin-2 (ChR2), differentiated and stimulated with light to induce contraction afterwards. C2C12 ChR2⁺ cell line was successfully established, though we are still optimising light stimulation parameters to induce contraction. This study presents the basis of an *in vitro* model for biomedical studies that combines biochemical and optical stimuli, hydrogels and 3D bioprinting to enable successful mimicking of muscle tissue.*

1. Introduction

The broad range of study models used for Biomedical applications includes animal models of human diseases, *in vitro* models (cell culture, bacteria, viruses and yeast) or modelling and simulation systems [1]. These models do not need to replicate exactly human conditions, though they should be reproducible and representative. Organs-on-a-chip consist in the fabrication of devices that replicate models on a microfluidic platform of sizes between millimetres and centimetres. They are used for relatively short (less than 1-month duration) pathophysiological process studies in structures of tens to hundreds of micrometres [2]. There are different techniques to design microdevices, but three-dimensional (3D) bioprinting is driving major innovations in the creation of human tissue-like structures. Mimicking physiologically relevant functional units *in vitro* would be a great advance in research of diseases with the possibility of translation to human studies and the creation of artificial organs [3]. Replication of skeletal muscle through 3D bioprinting is evolving exponentially both in Biomedical and Biorobotics fields.

Muscle tissue is formed by high density of cells embedded in an extracellular matrix (ECM), which is a set of materials such as proteins and carbohydrates that forms the interstitial (intercellular) environment[4]. The biochemical composition of the ECM is important to maintain the physical, topological, chemical and physiological properties of the sarcomere structure of the skeletal muscle. The characteristics acquired by the matrix trigger focal adhesions, affect cell morphology, movement and function [3,4]. Physiological characteristics of the ECM, which induce differentiation of myoblasts into myocytes and produce contraction, can be achieved with biochemical, mechanical and electrical stimuli. The integrity of muscle tissue relies in the adhesion among cells and between cells and the ECM [5].

Tissue engineering techniques such as Bioprinting and Optogenetics can be applied for the formation of *in-vitro* skeletal-muscle models. 3D Bioprinting creates spatially-controlled cell patterns in 3D preserving cell viability and function. It is a potential technique for engineering skeletal muscle cells based on the design of a 3D matrix that matches the physiological structure of muscle cells [5]. Optogenetics technique combines genetic manipulation and optical stimulation for cells excitation. Channelrhodopsin-2 (ChR2), a light-activated cation-selective membrane channel, can be used in skeletal muscle cells to induce contraction [6,7].

The proposed *in-vitro* model was to mimic skeletal-muscle physiology by making a non-cytotoxic 3D bioprinted structure that maintains cellular organization with relevant size, shape and structural integrity. The objectives of the proposed project were: to culture and differentiate myoblasts into myocytes, to 3D-bioprint cells into an ECM and to induce muscle fibre contraction by means of optogenetics.

2. Materials and methods

2.1. Cell culture and differentiation

C2C12 mouse myoblast (ATCC, CRL-1772), were seeded at a density of 2000cells/cm² in proliferation medium: DMEM, + 10 % FBS (Phoetal Bovine serum) + 1% Penicillin Streptomycin. Passages were made when cells reached 70% confluence and medium was changed every 2-3 days. To induce differentiation into myocytes, cells were seeded at 18.000 cells/cm² and changed to differentiation medium (DMEM + 5% HS, Horse Serum,

+ 1% Penicillin Streptomycin + 1% L-Glutamine + 2.5% HEPES) when they reached 80% confluence.

2.2. 3D cultures

Cells were seeded at a density of 1×10^6 cells/ml embedded in a composite material (50% Collagen-I + 40% Matrigel + 10% medium + 0.25% alginate). For that purpose, the pellet of trypsinised C2C12 cells was resuspended in different ECM material compositions handling them on ice: **i)** Matrigel 75%, Collagen-I 25%; **ii)** Matrigel 25%, Collagen-I 75%; **iii)** Matrigel 50%, Collagen-I 40%, Medium 10%, Alginate 0,25%. The cell/gel solution was seeded in drops of 30 μ L and incubated for 10 minutes at 37°C to gel the material. Then drops were covered with proliferation medium to maintain the culture. After 2 days *in vitro* (DIV), the proliferation medium was changed to differentiation medium. Viability of cells in 3D in each ECM composite was assessed checking the morphology and differentiation of cells in different layers every day during a week.

2.3. 3D bioprinting

BioCAD software was used to create the design to be printed, containing a rectangle-shape sacrificial mould compressing a muscle fibre inside (*Figure 1A*). C2C12 cells were trypsinised and the pellet was resuspended in the ECM material, loaded in the cartridge and incubated for 30 minutes to gel the material. Another cartridge was loaded with Pluronic-F127. The bioprinter (3D Discovery bioprinter, regenHU) was adjusted to print with both cartridges at the same time following the BioCAD design. The biocompatible sacrificial mould of Pluronic-F127 was printed in microextrusion mode adjusting pressure to 3,3 bar and feed rate to 7 ms. Cells/gel solution was printed in inject mode with a microvalve and the following parameters: pressure 0.5 bar, feed rate 10 ms. After bioprinting the whole design, it was incubated at 37°C for 10 min to gel and then washed with proliferation medium (*Figure 1B*) and incubated at 27°C for other 10 min, letting the sacrificial mould dissolve. Once the Pluronic-F127 structure was washed, the bioprinted fibre was covered with proliferation medium. After 3 days *in vitro*, the medium was changed to differentiation medium.

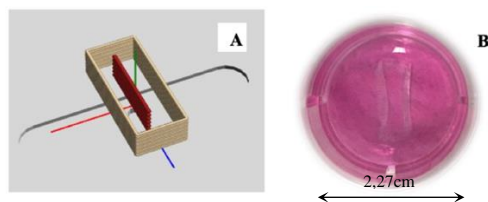


Figure 1: Bioprinted skeletal-muscle model: **A)** BioCAD design containing a rectangle for the sacrificial mould and straight line inside for Cells/gel solution. **B)** 3D structure outcome of muscle fiber after printing process.

2.4. Establishment of C2C12 ChR2+ cell line

C2C12 cells were transduced with a ChR2 positive lentivirus containing YFP (Yellow fluorescent protein) sequence as a reporter (pLenti-EF1a-hChR2(H134R)-EYFP-WPRE, Addgene), kindly donated by Prof. del Río Fernández. The lentivirus was added during 24 hours, and transduced cells were purified through FACS

(Fluorescent Activated Cell Sorting) obtaining C2C12 ChR2⁺ cell line. Once C2C12 ChR2⁺ cells were differentiated, it was applied light stimulus of 470 nm at the following frequency: 1 Hz (20 ms, 2000 pulses).

3. Results

Skeletal muscle cells cultured in two dimensions proliferated adhered to the surface acquiring a randomised configuration (*Figure 2A*). Biochemical stimuli facilitated myoblasts differentiation to myocytes. Physiological characteristics of skeletal muscle tissue, such as myotube formation and cell alignment (*Figure 2B*), were observed in 2D cultures.

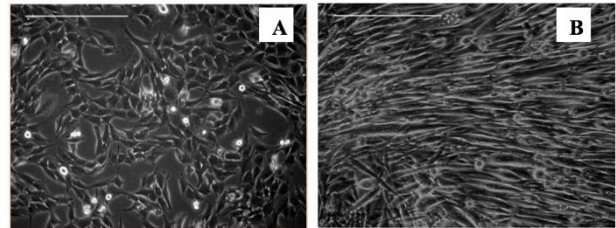


Figure 2: C2C12 culture (scale bar, 300 μ m): **A)** Undifferentiated cells with fusiform morphology in random structure after 1 DIV. **B)** Differentiated aligned cells with myotube morphology after 7 DIV.

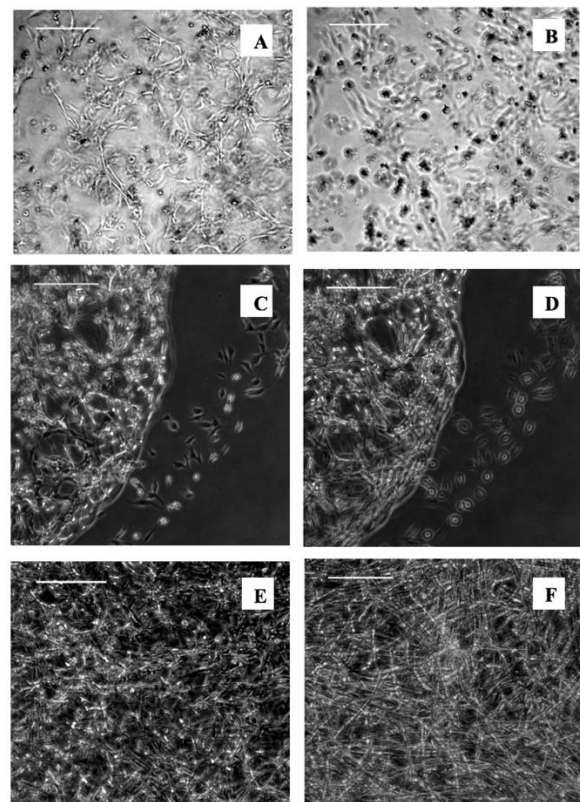


Figure 3: C2C12 cells embedded in 3D composites of Matrigel and Collagen drops (scale bar 300 μ m): **A)** Cells live in high Matrigel concentration (75%) at the bottom of the drop. **B)** Cells die in high concentration of Matrigel at top layers of the drop. **C)** Cells live in ECM with high concentration of collagen (75%) at bottom layers of the drop. **D)** Cells live in highly concentrated collagen ECM at top layers of the drop. **E)** Cells live in 3D structure at ECM composed of Matrigel, Collagen and Alginate 0, 25% after 2 days *in vitro*. **F)** Differentiated cells live in ECM with Alginate 0,25% after 7 DIV.

3D cultures viability tests showed that cells embedded in Matrigel survived only at the bottom of the plate, adhered to the surface at tested conditions (*Figure 3A and B*). While when they were cultured in Matrigel – collagen I mixture, they acquired 3D structure in suspension (*Figure 3C and D*). When they were embedded in more viscous composites (containing 0,25% alginate), cells proliferated and differentiated properly (*Figure 3E and F*).

3D bioprinted skeletal-muscle fibre model was successfully printed, achieving viability of cells after printing process with successful proliferation and differentiation afterwards (*Figure 4*).

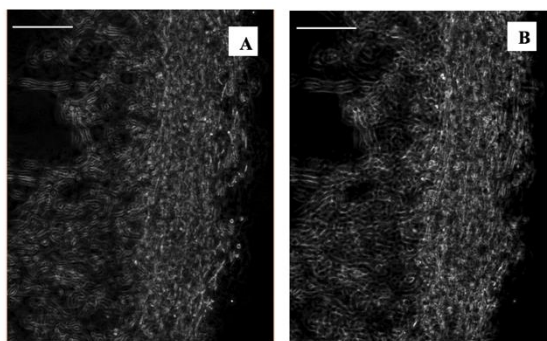


Figure 4: Viability of bioprinted C2C12 cells after 2 DIV (scale bar 300 µm): **A)** Bioprinted C2C12 cells live at bottom layers. **B)** Bioprinted C2C12 cells live at the top layers.

After 8 DIV, 6 days with differentiation medium, cells had differentiated into myocytes (*Figure 5*).

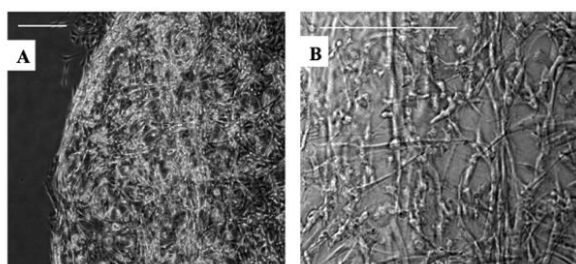


Figure 5: Post- bioprinting stage (scale bar, 300 µm). Bioprinted C2C12 cells differentiated after 8 DIV, acquiring 3D mesh structure (**A**) and elongated morphology (**B**).

Transduction and purification of C2C12 cells generated the C2C12 ChR2⁺ cell line expressing YFP in the cell membrane (*Figure 6*).

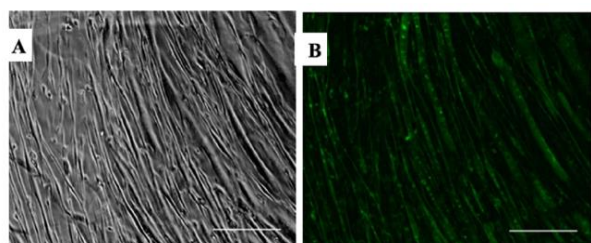


Figure 6: C2C12 ChR2⁺ cells after 10 DIV (scale bar, 200 µm). **A)** Bright field image of myocytes. **B)** Cells expressing YFP in the membrane.

4. Discussion

Skeletal muscle has a unique 3D sarcomere structure, required for its function of contraction. This structure is

acquired with: uniform distribution of oxygen and nutrients, cell alignment, uniform tension and high density of cells [8]. The combination of 3D structures and biomaterials creates tissues capable of mimicking physiological conditions. This approach may satisfy the functional requirements of the cells as well as the structural requirements of the tissue.

Organs-on-chips have the potential to serve as a new platform enabling to identify and validate the efficacy, safety and viability of potential targets before clinical trials. Microfluidic devices that mimic organs require a complicate multi-step process of fabrication, such as photolithography among others [3]. This makes small differences among each device fabricated, whereas 3D bioprinting is an automatic technique that can create identical replicas. During bioprinting processes, cells are subjected to thermal and mechanical stress that might modify their behaviour, functionality and difficulty to vascularise. Furthermore, complex structures that are difficult to hold up and vascular systems that ensure the supply of oxygen and nutrients to cells are required to ensure long-term cell viability in 3D bioprinted models [8].

Almost all human tissues have complex combinations and gradients of ECM components, each with specific biological and mechanical influences [4]. 3D cultures were made to test the biocompatibility of materials with cells and to select the best cell/gel solution composition to mimic native ECM. The composition of materials where cells are cultured is very important because the physical surrounding plays an important role in cells behaviour [4]. Biochemical components can promote differentiation, inducing morphological changes by alteration of receptors [4]. One of the main challenges in the 3D bioprinting field is to find materials that are not only biocompatible but can also undergo printing process. Materials currently used in the field of tissue engineering are predominantly based on naturally derived polymers (including alginate, gelatine, collagen, chitosan, fibrin and hyaluronic acid) often isolated from animal or human tissues, or synthetic molecules (polyethylene glycol derivatives for example) [5]. Collagen-I is one of the predominant proteins in muscle tissue, located generally in strong and resilient tissues, and it has been crucial to replicate muscle tissue in tested conditions as it provides cells the adequate surface stiffness to proliferate. All naturally derived polymers require hydration in order to maintain elasticity and plasticity character that facilitates contraction. But bioprinting procedure requires the addition of a gelling agent (alginate 0,25%) to the ECM composition because the viscosity of the Matrigel-Collagen composite is very low. By adding alginate, we slightly increased the viscosity preserving cell viability. However, extrusion bioprinting of low viscosity materials still represent a challenge, as they cannot not hold up a structure until they gel. Sacrificial moulding technique facilitates compression of the bioprinted low viscosity structures (i.e. cell/gel solution) while it gels, avoiding spreading or spilling phenomenon of the ECM material after extrusion, and making possible to replicate physiological fibre structure.

Optogenetics technology enables the control of processes at millisecond scale and with cell specificity precision [7]. It represents a milestone for the available tools required for bioengineering. For this application, it is necessary to perform genetic manipulation of cells. When performing the transduction, if the virus is in contact with cells for a short time, it might not integrate its genotype. But if it is left for too long time, in some cases, it might integrate too many times or even harm cells. Once C2C12 ChR2⁺ cells are differentiated, optical stimulation (2000 pulses of light of 20 ms) at 470nm enables non-invasive external control over contraction.

Future steps include the optimisation of optogenetics protocol and characterisation of bioprinted muscle fibres through immunostaining protocols, looking at skeletal-muscle differentiation markers.

5. Conclusions

Skeletal muscle tissue has a unique multicellular architecture and physicochemical microenvironments in 3D, both responsible for the generation of the mechanical contraction. The problems generally carried out in traditional culture assays enclose the physiological relevance, performance and long term survival. In 2D muscle cells lose cell-alignment and mechanical properties that facilitate contraction.

In this study we achieved: i) the differentiation of C2C12 myoblasts into myocytes after 7 days *in vitro*; ii) viability of C2C12 cells in 3D that create lattice structures in stead of proliferating adherent to the surface like in 2D structure; iii) the creation of bioprinted muscle fibre in 3D with an artificial ECM of Matrigel, Collagen-I and Alginate that contributes to cellular proliferation and functionality; iv) the establishment of C2C12 ChR2⁺ cell line.

Organs-on-a-chip are helpful to mimic pathologies in physiological conditions *in vitro* and facilitate the development of treatments for diseases, diagnostic tools or new therapeutic methods. Creating models like bioprinted skeletal muscle represents a huge progress in tissue engineering for the advance in personalised and regenerative medicine. However, it still requires lots of years of research to bring these concepts into clinical trials.

6. Acknowledgments

First of all, thanks to the Faculty of Medicine of the University of Barcelona (UB) for selecting the project to the CASEIB price and to the Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC) where it has been performed. Express gratitude to the *Nanobioengineering* group, where the research is performed and the *Molecular and cellular neurobiotechnology* group lead by Prof. del Río Fernández, that have kindly donated the virus. The Nanobioengineering SIC-BIO group is supported by the Commission for Universities and Research of the Department of Innovation, Universities, and Enterprise of the Generalitat de Catalunya (2014 SGR 1442). This work was partially supported by the MINDS project (TEC2015-70104-P) and BIOBOT (TEC2015-72718-

EXP), awarded by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness and the CERCA program from Generalitat de Catalunya. CIBER-BBN is an initiative funded by the VI National R&D&i Plan 2008-2011, Iniciativa Ingenio 2010, Consolider Program, CIBER Actions and financed by the Instituto de Salud Carlos III with support from the European Regional Development Fund. Finally, thanks to previous CASEIB organizing committees for allowing generously to use their guides.

7. References

- [1] Esch EW *et al.* Organs-on-chips at the frontiers of drug discovery. *Nature*, vol 14, sup 4, 2015, pp 248–260 (ISSN: 1474-1776).
- [2] Bhatia SN, Ingber DE. Microfluidic organs-on-chips. *Nature biotechnology*, vol 32, sup 8, 2014, pp 760–772 (ISSN: 1087-0156).
- [3] Uzel SGM *et al.* Microfabrication and microfluidics for muscle tissue models. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, vol 115, sup 2-3, 2014, pp 279-293 (ISSN:0079-6107).
- [4] Hinds S *et al.* The role of extracellular matrix composition in structure and function of bioengineered skeletal muscle. *Biomaterials*, vol 32, sup 14, 2011, pp 3575–3583 (ISSN: 0142-9612).
- [5] Murphy S V, Atala A. 3D bioprinting of tissues and organs. *Nature biotechnology*, vol 32, sup 8, 2014, pp 773–785 (ISSN: 1087-0156).
- [6] Nagel G *et al.* Channelrhodopsin-2, a directly light-gated cation-selective membrane channel. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol 100, sup 24, 2003, pp 13940–5 (ISSN: 0027-8424).
- [7] Raman R *et al.* Optogenetic skeletal muscle-powered adaptive biological machines. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol 113, sup 13, 2016, pp 3497–502 (ISSN: 1091-6490).
- [8] Kolesky DB *et al.* 3D Bioprinting of vascularized, heterogeneous cell-laden tissue constructs. *Advanced Materials*, vol 26, sup 19, 2014, pp 3124–3130 (ISSN: 0935-9648).

Medición de la variabilidad del ritmo cardíaco, la impedancia de la piel y el electroencefalograma para la cuantificación del dolor

C. Carbonell^{1,2,3}, C. González^{1,2,3}, E.W. Jensen³, M. Vallverdú^{1,2}

¹ Depto. ESAIL, Escuela de Ingeniería de Barcelona Este (EEBE-UPC)

² Center for Biomedical Engineering Research (CREB-UPC), CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Barcelona España

³Quantum Medical S.L., Mataró, España.

Resumen

En la actualidad, la monitorización del dolor es un tema muy investigado. La preocupación del paciente en todas las áreas de la salud siempre es la misma, ¿me dolerá? El dolor es una sensación completamente subjetiva y versátil y justamente es por eso que no está completamente resuelto. De modo que en la presente investigación se ha llevado a cabo el registro de diversas señales fisiológicas de 26 voluntarios sanos del sexo masculino para poder realizar un estudio de cuál de estas variables optimizaría la monitorización del dolor en las personas. Los parámetros registrados son el ritmo cardíaco, la variabilidad de la frecuencia cardíaca, la impedancia de la piel y la señal electroencefalográfica. Se concluye que tanto el protocolo establecido como el estímulo doloroso elegido han permitido observar variaciones en los parámetros analizados.

1. Introducción

El dolor es una de las afectaciones más comunes y debilitantes de las personas que no sólo afecta al individuo que lo sufre, sino también a los de su alrededor. La experiencia del dolor ha sido muy investigada a nivel de la biología molecular de las vías nociceptivas y también a nivel de los aspectos psicosociales que influyen en la experiencia del dolor. Aunque estos estudios han dado lugar a significativos avances en el manejo del dolor y la calidad de vida de los pacientes afectados, la evaluación y el tratamiento de dicho fenómeno siguen sin ser óptimos.

En España, el 10,5% de habitantes con edades de 16 o superiores sufrieron dolor en las últimas cuatro semanas antes de que se les realizara la encuesta. El 24% considera que este fenómeno dificulta la realización de las actividades cotidianas. Y entre el 50 y 90% han sufrido dolor, aunque hayan recibido tratamiento paliativo [1][2].

El fenómeno del dolor en la actualidad tiene una difícil detección a nivel cuantitativo. Se evalúa mediante un sistema de puntuación usado por los pacientes y tiene una serie de limitaciones como la subjetividad y la inexactitud. La solución para el presente problema sería diseñar un monitor que fuera capaz de indicar la intensidad de dolor a través de la medición del estrés para poder mejorar y evaluar los tratamientos de este fenómeno [3].

Diversos grupos de investigación han constatado que el ritmo cardíaco, la variabilidad de la frecuencia cardíaca [4] y la impedancia de la piel [5] son tres parámetros

claramente modificados ante estímulos dolorosos. Además, el cerebro controla el sistema nervioso autónomo, por lo que la señal electroencefalográfica es también un posible indicador del dolor.

El objetivo principal de la presente investigación es la caracterización de señales fisiológicas para tratar de identificar cuáles son capaces de cuantificar el dolor de forma objetiva.

Para ello se ha elaborado un protocolo para la adquisición de señales fisiológicas de sujetos sometidos a estímulos dolorosos y dichas señales se han procesado y tratado estadísticamente para discernir cuáles podrían ser utilizadas para el diagnóstico objetivo del dolor.

1.1. El ritmo cardíaco y la variabilidad de la frecuencia cardíaca

El sistema nervioso autónomo estimula los aparatos y sistemas orgánicos periféricos como la frecuencia cardíaca. En el mercado existen monitores basados en las señales electrocardiográficas diseñados para medir el dolor, como por ejemplo el ANI (Analgesia Nociception Index) (Metrodoloris Medical Systems, Francia) basado en el procesamiento del electrocardiograma a tiempo real.

1.2. Impedancia de la piel

El cuerpo experimenta una serie de cambios cuando es sometido al dolor, uno de ellos es la sudoración emocional que se activa a través de los nervios simpáticos de la piel. Los cambios de la impedancia se pueden medir a través de sensores superficiales. Actualmente solo hay un monitor en el mercado basado en la impedancia de la piel, el SCA (Skin Conductance Algesimeter) (Medstorm, Noruega), que mide los cambios de la impedancia de la piel y los asocia al dolor.

1.3. Electroencefalograma (EEG)

El cerebro es el principal mando de actuación del cuerpo, y por lo tanto encontrar un sistema de dolor basado en la señal EEG no sólo significaría cuantificar el dolor, sino que también se podrían predecir algunas respuestas fisiológicas ante este fenómeno.

Los siguientes índices se utilizan durante anestesia y sirven para asegurar que el paciente no sienta dolor durante la cirugía, reducir la estancia en la unidad de postoperatorio, disminuir los posibles efectos adversos de la anestesia y adecuar la dosis de analgesia. Su principio reside en la transmisión del estímulo nociceptivo a través de la médula espinal ya que la transmisión de un estímulo hasta el encéfalo se ve reflejado en la señal EEG registrada. Durante anestesia general, con una analgesia adecuada, un estímulo nociceptivo no es transmitido hasta el encéfalo.

- Índice CVI (Composite Variability Index) empleado en el monitor (Covidien, Estados Unidos). Se obtiene mediante el EEG frontal a partir de cuatro electrodos.
- Índice qNOX, empleado en el monitor CONOX (Fresenius Kabi, Bad Homburg, Alemania) también es obtenido a partir del EEG frontal. Se consigue a partir de un modelo lineal generalizado cuadrático que usa seis ratios frecuenciales como entrada. Éste índice ha sido usado para el presente estudio.

1.4. Evaluación del dolor mediante escalas

Los siguientes métodos se basan en la evaluación del dolor mediante escalas:

- Índice RSS, se basa en estados de sedación del paciente a través de distintos niveles subjetivos.
- Índice OAAS (Observer Assessment of Alertness and Sedation Scale), consiste en observar el estado de alerta y/o sedación.
- La EVA (Escala Visual Analógica) es una línea horizontal donde se encuentran valores del 0 al 10 que representan niveles de dolor.

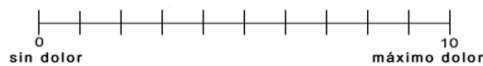


Figura 1. Escala Visual Analógica (EVA)

1.5. Otros métodos

Los siguientes monitores utilizan variables fisiológicas para la medición del dolor:

- Índice NSRI (Noxious Stimulation Response Index), se basa en la combinación de fármacos hipnóticos y opioides.
- Índice PPI (Pain Pupillary Index), mide y graba la pupila para evaluar la analgesia del paciente.
- Índice SPI (Surgical Pleth Index), implementado en monitores hemodinámicos, basado en la pletismografía de pulso y la fotopletismografía.
- Índice NFRT (Nociceptive Flexion Reflex Threshold), usa un estimulador y un equipo para registrar y analizar señales EMG.

Para la presente investigación se utilizará el monitor CONOX para el registro de las señales electroencefalográficas (índice qNOX). Un prototipo específicamente diseñado para que realice mediciones de impedancia de la piel de forma continua. Un monitor qCO (Quantum Medical, Mataró, España) que registra el

electrocardiograma y la impedancia torácica. Finalmente, la escala EVA para que el voluntario evalúe el dolor durante los estímulos dolorosos aplicados.

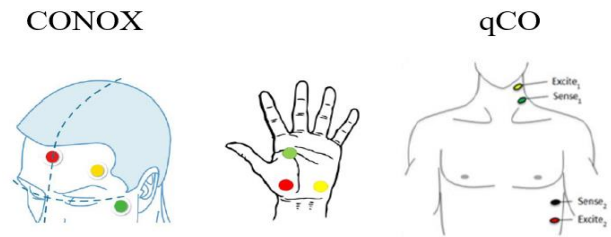


Figura 2. Colocación de los electrodos para la adquisición de las señales

2. Metodología

2.1. Definición del protocolo

El estudio tiene una duración aproximada de 15 minutos. Se aplica el estímulo doloroso en tres ocasiones con una duración máxima de 1 minuto por estímulo. Se alternan con períodos de reposo de 3 minutos cada uno. Durante los estímulos los voluntarios evaluarán el dolor mediante la EVA tres veces por estímulo. Las mujeres serán descartadas del estudio debido a la mayor probabilidad de sufrir el Fenómeno de Raynaud, una respuesta vascular exagerada a bajas temperaturas o al estrés emocional [6].

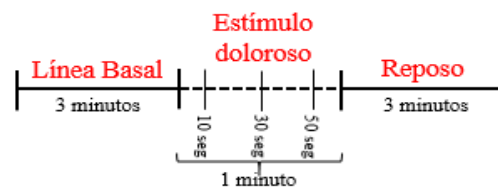


Figura 3. Definición del protocolo

El estímulo doloroso escogido fue introducir la mano en un cubo con hielo y agua a una temperatura entre 3 y 6°C. Los motivos por los cuales se eligió fueron los siguientes; se puede realizar en una sala ordinaria, material simple, el voluntario tiene la capacidad de elegir el momento de finalizar el estímulo doloroso y éste no genera ningún riesgo en la salud del voluntario.

2.2. Procesado de señales

Seguidamente se detalla el procesado aplicado a cada una de las señales estudiadas.

Para el estudio de la variabilidad del ritmo cardíaco se ha aplicado un filtrado de la serie RR para reducir el ruido del movimiento y los latidos ectópicos. Seguidamente, se elige una ventana móvil latido a latido que contiene 5 latidos. Se compara el siguiente RR, si su valor se encuentra dentro del 13% de la media de los 5 latidos, si está dentro del rango se mantiene mientras que, si no lo está, es sustituido por el valor medio de los 5 latidos anteriores. A continuación, se aplica una interpolación lineal a la señal RR a 2Hz y se obtiene una señal temporal RR(t). Se elimina la componente continua y se aplica la Transformada Rápida de Fourier a la señal RR temporal. Finalmente, se ha estimado la densidad espectral de potencia usando una ventana Hamming.

Para estudiar la impedancia de la piel se ha usado una frecuencia de muestreo de 1024Hz. En primer lugar, se ha aplicado un filtro Butterworth de orden 6. A continuación, se han calculado los valores máximos y mínimos de la impedancia para obtener el rango. Se aplica una ventana móvil de longitud 3 muestras con solape de dos y se resta la media de las tres muestras al valor actual. Se analizará visualmente la impedancia de la piel a partir de la media, la ocurrencia de picos en ventanas de 10 segundos y la varianza.

Al EEG se le ha aplicado un filtro paso banda tipo Notch para eliminar las interferencias de red eléctrica y un filtro paso-bajo para evitar el *aliasing*. Se realiza un espectrograma para representar la energía del contenido frecuencial y se graficará la frecuencia con una potencia acumulada del 50% (frecuencia media) y del 95% (frecuencia de borde espectral), ya que son los parámetros estándares de las señales EEG. Para finalizar, se han calculado los valores máximos del índice qNOX en cada etapa del estudio.

2.3. Análisis estadístico

El análisis estadístico ha sido aplicado únicamente al estudio de la variabilidad del ritmo cardíaco. Las demás variables han sido estudiadas sólo a nivel cualitativo. Se han estudiado los siguientes parámetros: ritmo cardíaco (HR), ritmo cardíaco máximo (Max HR), porcentaje de aumento del ritmo cardíaco (% Δ HR), las variaciones del tiempo inter-latido (RR) en un corto plazo (RMSSD), desviación estándar de los RR sucesivos (SDSD), porcentaje de RR que difiere más de 50ms (pNN50), la potencia en los rangos de alta frecuencia (HF) y la potencia en las altas frecuencias en unidades normalizada por la potencia total de la señal (nHF).

- Aplicación del test de normalidad de *Lilliefors* a todos los parámetros definidos y según los valores obtenidos se aplicará la prueba de *Wilcoxon* o la prueba del *t-test* 30 segundos antes vs. 30 segundos después de empezar el estímulo doloroso.
- Aplicación de la probabilidad de predicción (Pk), un tipo de correlación no paramétrica conocida como medida de asociación. Se aplica entre cada parámetro de la variabilidad del ritmo cardíaco y los valores de la EVA. Si el valor de Pk es 0,5 implica que el resultado de la predicción es totalmente aleatorio, por lo tanto, imposible de predecir el valor de una variable conociendo la otra. Mientras que, como más cerca de 1 sea el valor de Pk más alta será la probabilidad de predicción.
- Mediante el entorno SPSS Statistics 24, se ha calculado para cada parámetro: media, varianza, desviación estándar (desv), valores máximos (max), valores mínimos (min), asimetría y curtosis antes y durante el estímulo.

3. Resultados

Los datos demográficos de los 26 voluntarios que se incluyeron en el estudio se muestran en la Tabla 1.

Datos demográficos de los 26 voluntarios

Sexo (H/M)	26/0
Edad (años) (m \pm DS)	23 \pm 2,3
Altura (cm) (m \pm DS)	182,9 \pm 7,9
Peso (kg) (m \pm DS)	77,4 \pm 10,6

Tabla 1. Datos demográficos voluntarios. m: valor medio; DS: Desviación Standard; H: hombre; M: mujer

3.1. Variabilidad del ritmo cardíaco

Primeramente, se aplica el test de *Lilliefors* a cada variable estudiada. Según el valor de hipótesis nula obtenido (distribución normal o no) se ha aplicado *Wilcoxon* o *t-test*. En todas las variables se obtuvo H=1 de modo que se aplicó la prueba de *Wilcoxon* para comparar el rango medio de dos muestras relacionadas, comparando cada variable 30 segundos antes vs 30 segundos después de empezar el estímulo doloroso.

Se concluyó que existen diferencias significativas entre 30 segundos antes y 30 segundos después de empezar el estímulo.

A continuación, se aplicó la prueba de probabilidad de predicción entre cada parámetro y los valores de la EVA y se obtuvo en todos los casos un valor de Pk=0,5, por lo tanto, es imposible predecir el valor de una variable conociendo la otra.

Mediante el entorno SPSS se compararon los distintos parámetros de la variabilidad del ritmo cardíaco antes y durante los estímulos dolorosos, en todos ellos la media ha disminuido durante los estímulos.

Se calcularon los valores máximos del ritmo cardíaco en cada una de las etapas del estudio clínico y se observó que en 20 de los 26 voluntarios fue máximo en el primer estímulo doloroso.

Se ha graficado la variación del ritmo cardíaco en función del tiempo para ver como aumenta significativamente durante los estímulos. Se han marcado los inicios y fin de estímulo para facilitar la inspección visual de la señal.

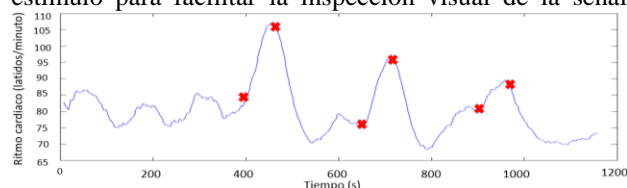


Figura 4. Ritmo cardíaco en función del tiempo

Finalmente, se calculó el porcentaje de aumento del ritmo cardíaco (% Δ HR) en cada estímulo doloroso comparado con el ritmo cardíaco en la línea basal.

Etapa estudio	% Δ HR
Estímulo doloroso 1	19,91%
Estímulo doloroso 2	9,20%
Estímulo doloroso 3	6,24%

Tabla 2. Porcentaje de aumento del ritmo cardíaco

3.2. Impedancia de la piel

Se han realizado tres tipos de estudio:

- La impedancia de la piel a partir de su media para ver los cambios bruscos de impedancia con más claridad y eliminar las variaciones lentas que no son producidas por los estímulos dolorosos. Se marcaron con líneas los inicios y fines de estímulo doloroso.
- Los intervalos de picos cada 10 segundos ya que es otra forma de detectar los estímulos en la señal. Se ha hecho un histograma para poder ver como se produce una gran cantidad de picos.
- La varianza, un estadístico que permite ver en qué instantes la señal varía más respecto a los valores anteriores, como mayor sea la varianza, más significativo ha sido el pico de impedancia.

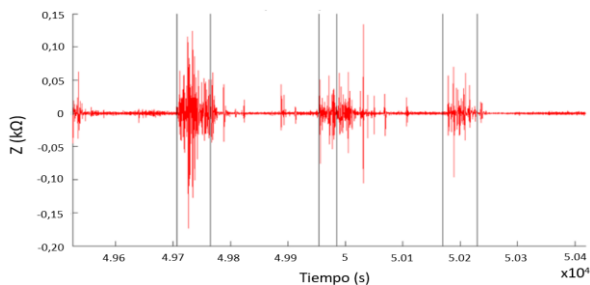


Figura 5. Variación de la impedancia a partir de la media

Finalmente, se ha comparado la variación de la impedancia de la piel con la del ritmo cardíaco visualmente y se ha podido observar como los aumentos en ambas señales coinciden con el inicio de los estímulos dolorosos.

3.3. Electroencefalograma

Para el estudio del índice qNOX se han obtenidos los valores máximos en cada etapa del estudio y en el 50% de los voluntarios éste máximo se localizaba en el momento de los tres estímulos.

A partir de las señales electroencefalográficas se ha hecho el espectrograma para ver si se observaban tres zonas con mayor acumulación de potencia. Finalmente, se ha graficado el SEF50 (frecuencia media) y SEF95 (frecuencia de borde espectral) aunque no se ha observado correlación visual entre voluntarios.

4. Conclusiones

Se puede concluir que el protocolo establecido ha demostrado ser válido para el estudio propuesto en la cuantificación del dolor. Además, el estímulo doloroso elegido ha permitido observar variaciones en los parámetros analizados.

Analizando cada uno de los parámetros propuestos, se observa que la variabilidad del ritmo cardíaco es la señal que ha sido mayormente modificada ante el dolor: HR, Max HR, %ΔHR, en el RMSSD, SDDSD, pNN50, HF y HF_n tal y como se ha visto en el estudio estadístico mediante el entorno SPSS.

También se ha constatado que la impedancia de la piel es una señal que aporta información útil para la

monitorización del dolor aunque es un parámetro menos específico.

El índice qNOX obtenido a partir de la señal electroencefalográfica es notablemente fiable en la detección del dolor ya que en el 50% de los voluntarios analizados ha aumentado a lo largo de los tres estímulos dolorosos aplicados.

Respecto a la escala EVA, se ha constatado que es un método muy subjetivo para la cuantificación de la intensidad del dolor ya que cada individuo lo percibe de forma distinta. Al calcular la Pk entre los parámetros de la variabilidad del ritmo cardíaco y las valoraciones EVA, se ha observado que es imposible predecir los valores proporcionados por el voluntario con la información procedente de los parámetros extraídos del electrocardiograma.

Finalmente, mencionar que el presente estudio ha sido realizado únicamente a personas del sexo masculino y jóvenes, de modo que, sería conveniente en una siguiente fase ampliar el rango de edad de los sujetos, así como aplicar un estímulo distinto para incluir a las mujeres. De este modo, se podría investigar si los resultados presentados en este estudio son extrapolables a otros grupos de población.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina es una iniciativa de ISCIII y por la empresa Quantum Medical S.L.

Referencias

- [1] Página web de Universidad de los Pacientes. <http://www.universidadpacientes.org/trombosi/info/7.27/> (Consultada: Octubre 2016).
- [2] Desbiens NA, Wu AW, Broste SK, et al., Pain and satisfaction with pain control in seriously ill hospitalized adults: Findings from the SUPPORT research investigations. Study to understand Prognoses, vol. 24, 1996.
- [3] Página web de American Heart Association, Target Heart Rates – AHA. http://www.heart.org/HEARTORG/GettingHealthy/PhysicalActivity/FitnessBasics/Target-Heart-Rates_UCM_434341_Article.jsp. (Consultada: Diciembre 2016).
- [4] Randich A, Maixner W, “Interactions between cardiovascular and pain regulatory systems,” *Neurosci. Biobehav. Rev.*, vol. 8, no. 3, pp. 343–367, 1984.
- [5] Storm H. Changes in skin conductance as a tool to monitor nociceptive stimulation and pain. *Curr. Opin. Anaesthesiol.* Vol 21, no 6, pp 796-804, 2008.
- [6] Página web de UpToDate. http://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-the-raynaud-phenomenon?detectedLanguage=en&source=search_result&translation=Clinical+manifestations+and+diagnosis+of+the+Raynaud+phenomenon&search=Clinical+manifestation+s+and+diagno (Consultada: Diciembre 2016).

PET Texture Analysis: Does it Have Clinical Significance in Locally Advanced Rectal Cancer?

P. Martin-Gonzalez¹, E. Gomez de Mariscal^{1,2}, M.E. Martino^{1,2}, P.M. Gordaliza^{1,2}, J.L. Carreras^{2,3,4}, F.A. Calvo^{2,4,5}, J. Pascau^{1,2}, M. Desco^{1,2,6}, A. Muñoz-Barrutia^{1,2}

¹ Bioengineering and Aerospace Engineering Department, Universidad Carlos III de Madrid, Spain

² Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, Spain

³ Department of Radiology and Medical Physics, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain

⁴ School of Medicine, Universidad Complutense, Madrid, Spain

⁵ Department of Oncology, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain

⁶ Centro de Investigación Biomédica en Red de Salud Mental (CIBERSAM), Madrid, Spain

Abstract

¹⁸F-FDG PET/CT is a widely used tool in oncology for tumor staging and disease follow-up. The aim of this pilot study is to propose a method to automatically analyze heterogeneity from PET studies and evaluate its prognostic capacity. Thirty-seven patients diagnosed with locally advanced rectal cancer had an ¹⁸F-FDG PET/CT study before undertaking chemoradiotherapy. From PET images, tumor region was segmented and metabolic parameters and texture parameters (global, local and regional) were extracted. Principal component analysis was performed to reduce the dimensionality. Multivariate binary logistic regression with cross-validation correction was applied to approximate the clinical relevance of the features. Areas under the ROC Curve (AUC) were used to compare the prediction obtained. Tumor regression grade was considered as the gold-standard. Principal components extracted from the standard parameters together with the textural features (explained variance of 92%) showed a poor assessment of response after cross-validation (AUC=0.525). The combination of individual metabolic and texture features that were statistically significant in the step-wise multivariate binary logistic regression raised the accuracy even after cross-validation correction (AUC=0.848). In conclusion, tumor texture as a measure of heterogeneity could be adding useful information to the standard parameters used routinely by the radiologists.

1. Introduction

Whereas updates in multimodality disease diagnosis and treatment have improved the outcome of cancer patients over the past decades, the election of an optimal personalized treatment for cancer patients remains a challenge [1]. The early prediction of tumor response would open the possibility of delivering tailored cancer treatments that could benefit the patients and optimize the organization in the clinic [2].

Many medical imaging procedures are routinely used in oncology for staging and follow-up. Thus, they represent a readily available set of data that can be used to study tumor response in a non-expensive manner using quantification algorithms. This approach, normally referred as radiomics, is currently in the spotlight of clinical research [3].

¹⁸F-Fluorodeoxyglucose (FDG) PET imaging is an example of tool widely used for oncology purposes. PET analysis has mainly focused on the extraction of semi-quantitative features computed from the Standardized Uptake Value (SUV) that define tumor metabolism.

Recent research has proposed the combination of SUV parameters with volume descriptors (e.g., Metabolic Tumor Volume (MTV), Total Lesion Glycolysis (TLG)). Nevertheless, the prognosis capacity of all these parameters, even when combined, is very limited [4].

Thus, over the last years, radiomics approaches in PET have focused on the extraction of heterogeneity measurements using texture analysis. Since heterogeneity is related with angiogenesis, necrosis and even, proliferation, it can potentially provide valuable information related with tumor response to therapy [5].

In this context, the aim of the present work is to provide a complete open-source workflow to extract texture metrics that capture tumor heterogeneity and to study if they can predict response to treatment in patients with locally advanced rectal cancer.

2. Materials and Methods

2.1. Patients

All the patients in this study were diagnosed with locally advanced rectal cancer, either cT3-4 or cN+, according to the American Joint Committee on Cancer (AJCC). The inclusion criteria, staging and follow-up have been formerly described [6]. Patients underwent ¹⁸F-FDG PET/CT imaging before starting their treatment. It consisted in neoadjuvant chemoradiotherapy, a surgery to remove the tumor, intraoperative radiotherapy and adjuvant chemotherapy. Detailed information on the treatment has been reported elsewhere [6].

The protocol followed the recommendations of the Helsinki declaration, the institutional Ethics committee approved it, signed informed consent from all patients was obtained and all images were correctly anonymized.

2.2. Histopathology analysis

Response was evaluated following the protocol by Quirke *et al.* [7]. Resected specimens were examined and post-neoadjuvant (NAT) changes were classified according to the sixth edition of the American Joint Committee on Cancer (AJCC) sorting (ypTNM) by an expertise pathologist. The abovementioned changes of the tumor after NAT were organized according to the tumor regression grade (TRG) [8]: TRG 0, no response; TRG 1, residual cancer outgrowing fibrosis; TRG 2, fibrosis outgrowing residual cancer cells; TRG 3, presence of residual cancer cells; and TRG 4, complete histopathological response. Tumors with TRG 0-2 were considered NAT non-responders and tumors with TRG 3-4 were considered responders.

2.3. PET imaging and processing

All images were obtained using a Philips Gemini TF PET/CT with axial field of view of 18 cm and spatial resolution of 4.7 mm full-width half maximum. All patients had a 3D PET study with 16-slices CT imaging (slice thickness of 3 mm and reconstruction slice thickness of 1 mm with interval of 1.5 mm) that comprised the pelvis (from the anal verge to the iliac crests). Axial images were reconstructed in the coronal and sagittal planes for multi-planar viewing on a review workstation. Data was normalized and corrected for attenuation, scatter radiation, random coincidences, dead time and decay. Normalization was also applied to the blood glucose level measured before FDG administration.

Studies were reconstructed by means of normalization/attenuation weighted ordered subsets expectation maximization (two iterations and 16 subsets) and a post-smoothing step using a 0.5 Hanning filter.

The PET scan was obtained 45 minutes after the intravenous injection of 5MBq/kg of FDG. Patients rested and were orally hydrated after the injection. Using a movable alignment system, the PET scan started with the patients positioned as for the radiotherapy treatment. Patients' preparation included fasting for at least six hours before the study and they were given a cleansing enema on the morning of the scan.

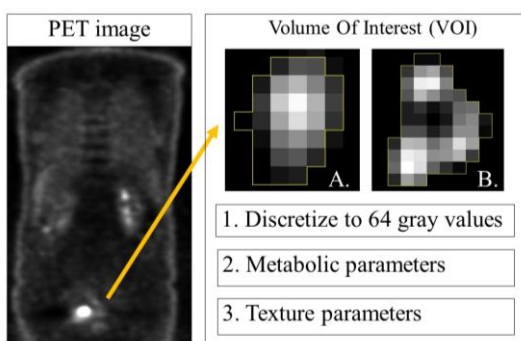


Figure 1: Summary of the workflow implemented for the analysis of ^{18}F -FDG PET-CT studies. A and B show an example of homogeneous and heterogeneous tumors respectively.

2.4. PET scan analysis

Figure 1 summarizes the whole work-flow implemented in this step. Tumors were segmented to obtain the Volume of Interest (VOI) by means of a 40% maximum activity threshold under the consideration of a nuclear clinician with expertise in the field. Following previous literature in the field [5], VOIs containing the tumor region were quantized to 64 gray values to allow comparison among patients and reduce noise in the measures extracted.

The 3-D Slicer open-source software (Version 4.0.0. Harvard University, Cambridge, MA) and the PET-IndiC module (Ethan Ulrich, University of Iowa) were used to compute the metabolic characteristics of each VOI. A complete list of all the features calculated is given in Annex A. Their definition has been reported elsewhere [9].

Several texture parameters were extracted to perform the heterogeneity analysis. The description of all the parameters used has been previously reported [9] but a enumeration of the features is presented in Annex B. Namely, a set of 16 global texture features were obtained using a set of first and higher order statistics from the gray-level histogram. Moreover, patterns in specific neighborhoods are better captured by the usage of local texture parameters. In this study, Gray Level Co-occurrence Matrix (GLCM) was used to capture the local texture changes [10]. From it, six different statistics were extracted (See Annex B) as previous literature reported their ability to capture relevant texture information while keeping the number of features used relatively low [11,12,13]. Moreover, to capture real intensity changes rather than noise artifacts, the GLCM analysis was performed at five different distances (scales in the image processing nomenclature) [13]. The values implemented consisted in the odd distances from one to ten voxels. Lastly, regional texture analysis was performed to analyze intensity changes over different regions. Indeed, Gray Level Run Length Matrix [14] was used to study texture over different run-lengths for this project. Ten different statistics capturing regional texture measures were obtained from this matrix.

Global and regional texture features were extracted with the Heterogeneity-CAD module (Narayan, V. *et al.*, Harvard Medical School) in the 3D Slicer open-source package. A built-in software in Python was implemented to extract local texture metrics. The code is available upon reasonable request.

2.5. Statistical analysis

Two different approaches were used to study the clinical significance of the parameters extracted. In all the cases, the histopathology analysis aggrupation of responders and non-responders was used as a gold-standard.

First, a model was built with reduced dimensionality applying Principal Component (PC) Analysis to the different sets of data. Those PCs with eigenvalue greater than one were included in each case. A multivariate binary

logistic regression was later performed to approximate the prognosis capacity of the PCs. Secondly, a step-wise binary logistic regression was performed with a 95% statistical significance threshold in the Wald test for each of the datasets.

An evaluation of the binary logistic models was performed using a k-fold cross-validation where 80% of the dataset was used as training data and the 20% remaining was used as the validation set in 1000 folds. Mean accuracy and mean Area Under the ROC Curve (AUC) with their respective 95% confidence intervals have been provided as a result to compare the accuracy in response prediction of all of the models.

3. Results

The prediction of response from the metabolic and texture features was studied using two different approaches. In all cases, three models were built: one with the metabolic features, one with the texture features and a third one, combining texture and metabolic metrics. Figure 2 summarizes the results obtained in each of the cases.

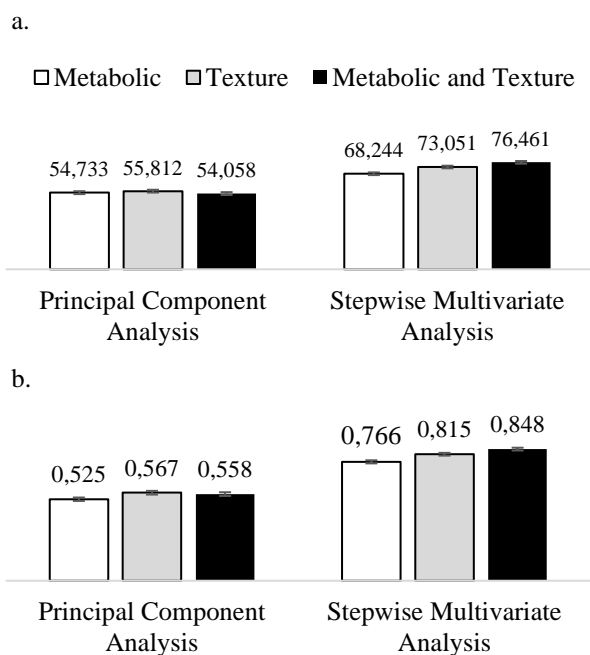


Figure 2: Results obtained from the response prediction. 2 (a) shows the mean accuracy of the models and 2 (b) shows the mean Area under the Curve (AUC). The error bars represent the 95% confidence interval in both cases.

3.1. Principal Components Analysis

The PCs extracted from the metabolic features (explained variance of 95,409%) yield an accurate result in only 54,733 \pm 1,038 % of the cohort and an AUC of 0,525 \pm 0,011.

The PCs extracted from the texture metrics database (explained variance of 91,161%) resulted in an accurate prediction in 55,182 \pm 1,001% of the patients and an AUC of 0,567 \pm 0,012.

Finally, the PCs extracted from the database that contained all the metabolic and texture features together (explained

variance of 93,076%) produced an accurate prediction in 54,058 \pm 1,030 of the cohort and an AUC of 0,558 \pm 0,012.

3.2. Step-wise multivariate binary logistic regression

When using only the metabolic features dataset, three variables remained statistically significant. Namely, Glycolysis Q1, Glycolysis Q2 and Q1 distribution. The model built with these three variables produced an accurate prediction of response in 68,244 \pm 0,965% of the cohort and an AUC of 0,766 \pm 0,010.

When using the texture features dataset, four parameters related with the local texture features (GLCM) remained statistically significant (Energy at distances of three, five and nine voxels and Inverse Different Momentum Normalized (IDMN) at distance of seven voxels). This model performed an accurate prediction in 73,051 \pm 0,922% of the patients and an AUC of 0,815 \pm 0,009.

When metabolic and texture features were analyzed together, Glycolysis Q1, Glycolysis Q2, Energy from GLCM at distances of five and nine voxels and GLCM IDMN at distance seven voxel remained statistically significant. The results produced from this model were an accuracy of 76,461 \pm 0,883% and an AUC of 0,848 \pm 0,009.

4. Discussion

Heterogeneity has already been proposed as a prognosis factor in several cancer types such as breast, esophageal or lung cancers [4, 5]. In this study, we wanted to evaluate the relevance of heterogeneity in colorectal cancer.

A complete pipeline has been carefully revised to establish a feature extraction workflow. After metabolic and texture metrics were calculated, the prognosis capacity of these sets of variables had to be evaluated.

A first approximation to evaluate the clinical significance of texture analysis in PET was performed using Principal Component Analysis. Principal components extracted from metabolic and texture features showed a promising capacity to predict tumor response in our previous work [19]. Nonetheless, cross-validation evaluation showed how the principal component's model was not robust, yielding a poor accuracy and AUC, when several validation and training cohorts were used. Therefore, after PCA, a more robust classification method was performed using a step-wise multivariate binary logistic regression at a 95% statistical significance. Surprisingly, the results from this model maintained a high accuracy and AUC even after cross-validation. This implies the robustness of the model built with these variables.

As a highlight, the better prediction was found when using texture and metabolic features together. This supports previous findings in the literature [5] where the clinical significance of texture seems to improve the routinely used metabolic features for long-term outcome prediction.

We acknowledge several limitations of this work since a relatively small number of patients has been used and there

is no validation with an independent dataset. Therefore, the clinical significance of heterogeneity in LARC presented in this study needs to be understood as a preliminary result that must lead to further investigation. Furthermore, updates in PET technologies over the past years have obtained a better resolution. Texture features extracted from images acquired using these novel technologies may be able to provide improved prognosis information over the one obtained from our dataset.

5. Conclusion

A model for prediction of response using pretreatment PET metabolic and texture features has been evaluated. After proposing a complete pipeline for this purpose, the main statistical analysis results showed how an automatic texture measurement could improve the available prognosis capacity of regular metabolic features and may become essential in routine oncology procedures.

A more advanced project with a larger patient cohort and images acquired with novel PET/CT technology is planned in order to increase the robustness of the findings from this study and extent clinical staging tools.

Acknowledgements

This work was partially supported by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (TEC2013-48552-C2-1-R, TEC2015-73064-EXP, TEC2016-78052-R) (to AMB) and a Leonardo grant to Researchers and Cultural Creators 2017, BBVA Foundation (to AMB). PET dataset was financed in part by a Research Grant from Mutua Madrileña Biomedical Foundation study code CMF, FMM 06-02. PMG is supported by ‘Beca de Colaboración’ of the Spanish Ministry of Education, Culture and Sports. The CNIC is supported by the Ministry of Economy, Industry and Competitiveness (MEIC) and the Pro CNIC Foundation, and is a Severo Ochoa Center of Excellence (SEV-2015-0505).

References

- [1] Smith N, Brown G. Preoperative staging of rectal cancer. *Acta Oncol* . 2008; 47(1):20-31.
- [2] Blomqvist L, Glimelius B. The “good”, the “bad”, and the “ugly” rectal cancers. *Acta Oncol*. 2008; 47:5-8.
- [3] Hatt M, Tixier F, Visvikis D, Cheze Le Rest C. Radiomics in PET/CT: More Than Meets the Eye? *J Nucl Med*. 2017;58(3):365-366.
- [4] Altini C, Niccoli Asabella A, De Luca R, et al. Comparison of 18F-FDG PET/CT methods of analysis for predicting response to neoadjuvant chemoradiation therapy in patients with locally advanced low rectal cancer. *Abdom Imaging*. 2015;40(5):1190-1202.
- [5] Hatt M, Tixier F, Pierce L, Kinahan PE, Le Rest CC, Visvikis D. Characterization of PET/CT images using texture analysis: the past, the present{...} any future? *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2017;44(1):151-165.
- [6] Calvo FA, Sole CV, de la Mata D, Cabezón L, Gómez-Espí M, Alvarez E, Madariaga P, Carreras JL. 18F-FDG PET/CT-based treatment response evaluation in locally advanced rectal cancer: a prospective

- validation of long-term outcomes. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2013;40(5):657-67
- [7] Quirke P, Dixon MF, Durdey P, Williams NS. Local recurrence of rectal adenocarcinoma due to inadequate surgical resection: histopathological study of lateral tumor spread and surgical excision. *Lancet*. 1986;328(8514):996-999.
 - [8] Rödel C, Martus P, Papadopoulos T, et al. Prognostic Significance of Tumor Regression After Preoperative Chemoradiotherapy for Rectal Cancer. *J Clin Oncol*. 2005;23(34):8688-8696.
 - [9] P. Martin-Gonzalez. Clinical Significance of Heterogeneity and Protein Expression in Locally Advanced Rectal Cancer. (Unpublished final degree dissertation). Universidad Carlos III de Madrid, 2017
 - [10] Haralick RM, Shanmugam K, Dinstein I. Textural Features for Image Classification. *IEEE Trans Syst Man Cybern*. 1973;SMC-3(6):610- 621.
 - [11] Conners RW, Harlow CA. A Theoretical Comparison of Texture Algorithms. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell*. 1980;PAMI-2(3):204- 222.
 - [12] Segmentation of a high-resolution urban scene using texture operators. *Comput Vision, Graph Image Process*. 1984;25(3):273-310.
 - [13] Liu S, Cai W, Wen L, Feng DD. Multiscale and multiorientation feature extraction with degenerative patterns for 3D neuroimaging retrieval. In: 2012 19th IEEE International Conference on Image Processing. IEEE; 2012:1249-1252.
 - [14] Galloway MM. Texture analysis using gray level run lengths. *Comput Graph Image Process*. 1975;4(2):172-179.

Annex A: Metabolic parameters

The metabolic parameters used in this study were: SUVmean, SUVpeak, SUVmin, SUVmax, Metabolic Tumor Volume (MTV), Total Lesion Glycolysis (TLG), Standardized Metabolic Activity (SAM), Median, First quartile, Upper Adjacent, Glycolysis in first, second, third and fourth quartiles and Distribution in first, second, third and fourth quartiles.

Annex B: Texture parameters

The global texture features used were: Voxel Count, Energy, Entropy, Minimum Intensity, Maximum Intensity, Mean Intensity, Median Intensity, Range, Mean Deviation, Root Mean Square, Standard Deviation, Skewness, Kurtosis, Variance, Uniformity and Coefficient of Variation.

The local texture features extracted from the GLCM were: Energy, Contrast, Entropy, Cluster Prominence, Cluster Shade and Inverse Difference Momentum Normalized.

The regional texture features extracted from the GLRLM were: Short-Run Emphasis, High Gray-Level Run Emphasis, Long-Run Emphasis, Short-Run Low Gray Level Emphasis, Gray-Level Non-Uniformity, Short-Run High Gray Level Emphasis, Run-Length Non-Uniformity, Long-Run Low Gray Level Emphasis, Run Percentage, Low Gray-Level Run Emphasis and Long-Run High Gray Level Emphasis.

Long-Short Term Memory Neural Decoder for Cortical Brain-Machine Interface

N. Armengol Urpí¹, P. H. Tseng²

¹ Department of Information and Communication Technologies and Department of Experimental and Health Sciences, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, Spain, nuriaarmengol95@gmail.com

² Center for Neuroengineering, Duke University, Durham, United States of America, pohe.tseng@duke.edu

Summary

Brain-machine interfaces (BMIs) translate neural activity into control commands for assistive and prosthetic devices. In this project, Long-short term memory (LSTM), a recurrent neural network architecture, was applied to BMI control and compared to several decoding algorithms. Offline decoding was tested on neuronal population recordings in motor cortex of a monkey performing a center-out task using a joystick. Hyper-parameter optimization was performed using grid search so as to obtain network parameters that maximized decoder performance. The optimized LSTM learned quickly, and significantly outperformed the decoder Wiener filter. In the online implementation, LSTM decoded activity of approximately 150 motor cortical neurons and enabled a monkey to perform center-out reaching movements to eight peripheral targets. LSTM online performance exceeded that of the Unscented Kalman Filter, as judged by the number of correctly performed trials, decoded trajectory straightness and trajectory length to target as measures of accuracy. These results suggest that LSTM can replace many of current decoders in scientific and clinical BMI implementations.

1. Motivation

In the past decade, brain machine interfaces (BMIs) have increased popularity when holding promise to restore sensitivity and mobility to people who suffer from sensory or motor deficits, by connecting their brain structures to assisted devices and thus, offering them greater interaction with the world. BMIs are devices that transform extracellular activity from single or a population of neurons in the motor areas of cerebral cortex and convert them into commands to control external actuators, such as limb prostheses, wheelchairs or computer cursors. Recently, there has been significant work and progress in the field of motor BMIs, resulting in proficient control in non-human primates and humans. They record the neural activity from motor cortical areas, use a mathematical algorithm termed the "decoder" to convert this activity into control commands for an external device and provide visual feedback of the generated movement to the subject. The most critical component to ensure high performance of a BMI system, based on stable, reliable control signal, is the decoder, whose performance, although huge advances have been done, still remain unsatisfactory. Designing a decoder requires the choice of a model structure that describes the relationship between the control signal and kinematic states, which is used to derive the decoder that estimates the kinematics from neural activity. In most of BMIs, the encoding model assumes that the spike counts

are a linear function of the intended kinematics, resulting in decoders such as the Wiener and the Kalman filter. Due to its ability to capture aspects of the dynamics in the kinematic data, Kalman filter generally performs better than Wiener. However, the linearity of Kalman filter limits its power whenever the relation between input data and output is non-linear. For this reason, an n -th order Unscented Kalman Filter (UKF) [1] which extends the observation model to a quadratic function and which augments the movement state variables with a history of $n-1$ recent states was developed to improve BMI performance. Yet, the non-linearity of UKF is parametric. So as to skip the need of specifying a parametric form but still accounting for non-linear relationships among states and neural data, recently, neural networks which have been claimed to be able to infer this non-linearity without the need of a parametric form have also been developed for real-time BMIs [2].

In the current thesis, a novel decoding algorithm using a type of recurrent neural networks called Long Short-Term Memory (LSTM) is used. Recurrent neural networks (RNNs) are extremely powerful neural network models that are useful for learning nonlinear relationships between input and/or output that are sequences with complex temporal dependencies. Unlike standard feedforward neural networks, RNN are architectures with cyclic connections among adjacent time-steps, that allow them to retain information about data for long periods of time, and thus they are usually able to learn relationships between input and output that occur within long time windows. One of the main challenges when using RNN is the difficulty in training due to vanishing and exploding gradient problems that occur when training them via backpropagation for long time-steps, which at the end prevent the network to learn long-time dependencies in data [3]. LSTM is a type of RNN designed to overcome this problem while showing superior ability to model temporal sequences with long range dependencies than conventional RNNs.

Standard RNNs have already been used in the problem of BMI [2], but to this day, there has not been any reported decoder algorithm which uses LSTM. Hence, a study in the feasibility of LSTM for BMI was performed in the current project. It was hypothesized that given its recurrent property, the decoder would not require a predefined parametric form to model the relation between the neural data and kinematics. The decoder would model the

dynamics of the internal brain by using self-connected artificial neurons to infer the relation between the activity of real neurons with their own past and the delayed motor commands they cause. More importantly, in contrast to Wiener and Kalman filter, the temporal relationship is learned by the algorithm during the training so that it is not required to specify the size of the temporal window in both online/offline predictions.

The decoder was tested offline in two different datasets containing neuronal population recordings in a monkey performing a center-out task using a hand-held joystick to control a cursor on a screen towards a target. LSTM decoder was also tested online to decode activity of approximately 150 motor cortical neurons so as to enable a monkey to perform center-out reaching movements to eight peripheral targets in real-time.

The results demonstrated not only its successful operation but also that it significantly improved offline and online performance when compared to Wiener and UKF algorithms, suggesting that LSTM can replace many of current decoders in scientific and clinical BMI implementations.

2. Methodology

The LSTM network was self-implemented in Python language version 3.5, using the open source software library in Python Tensorflow. The architecture used was based on the one originally described by Graves and Schmidhuber [4] commonly referred as *vanilla* LSTM. Vanilla LSTM incorporates forget gates and peephole connections, two variations proposed by [5] and [6] which were not implemented in the original LSTM architecture [7]. The vector formulas for a vanilla LSTM layer forward pass are given below and a detailed schematic can be seen in Figure 1.

$$\begin{aligned} \mathbf{g}^{(t)} &= \sigma(\mathbf{x}^{(t)}W^{gx} + \mathbf{h}^{(t-1)}W^{gh} + \mathbf{b}_g + \mathbf{s}^{(t-1)}W^{p_g s}) \\ \mathbf{i}^{(t)} &= \tanh(\mathbf{x}^{(t)}W^{ix} + \mathbf{h}^{(t-1)}W^{ih} + \mathbf{b}_i) \\ \mathbf{f}^{(t)} &= \sigma(\mathbf{x}^{(t)}W^{fx} + \mathbf{h}^{(t-1)}W^{fh} + \mathbf{b}_f + \mathbf{s}^{(t-1)}W^{p_f s}) \\ \mathbf{s}^{(t)} &= \mathbf{f}^{(t)} * \mathbf{s}^{(t-1)} + \mathbf{g}^{(t)} * \mathbf{i}^{(t)} \\ \mathbf{o}^{(t)} &= \sigma(\mathbf{x}^{(t)}W^{ox} + \mathbf{h}^{(t-1)}W^{oh} + \mathbf{b}_o + \mathbf{s}^{(t)}W^{p_o s}) \\ \mathbf{h}^{(t)} &= \mathbf{o}^{(t)}\phi(\mathbf{s}^{(t)}) \end{aligned}$$

where \mathbf{x} is the input of the LSTM at every time step t containing the binned spike count of real monkey neurons, \mathbf{h} is the output of the LSTM cell, \mathbf{i} is the input node, \mathbf{s} is the internal state and \mathbf{f} , \mathbf{g} and \mathbf{o} are the forget, input and output gates respectively. All \mathbf{b} are bias terms. Where no explicit mathematical symbol is used between matrices, matrix product is computed while $*$ stands for Hadamard product. Sigmoid function (σ), hyperbolic tangent function (\tanh) and ϕ are point-wise non-linear activation functions. ϕ can be \tanh , ReLu or sigmoid function but in the current implementation was omitted due to lack of evidence it was needed.

All W are matrices of weights representing the strength of the edges; the ones with subscript p are the peephole connections allowing output gate to modulate the flow of information depending on current internal state. LSTM

architecture implemented consisted on only one memory cell per block and only one hidden layer since the performance of the decoder decreased when adding more layers or more memory cells per block.

Finally, since dealing with a regression problem, given the LSTM output at time t $\mathbf{h}^{(t)}$, there was need to map the output layer $n \times 1$ dimension to a $S \times 1$ dimension, where n is the number of artificial neurons in the network and S is the dimension of the predicted output $\bar{\mathbf{y}}^{(t)}$: $\bar{\mathbf{y}}^{(t)} = \mathbf{h}^{(t)}W^{hy} + \mathbf{b}_y$;

W^{gx} , W^{ix} and W^{fx} , W^{gh} , W^{ih} and W^{fh} were initialized from a truncated normal distribution with mean $\mu = 0$ and standard deviation $\sigma = 0.08$. μ and σ values were set after trial and error method. W^{hy} , $W^{p_g s}$, $W^{p_f s}$ and $W^{p_o s}$ were initialized to zero. All bias vectors were initialized to zero except from \mathbf{b}_f , whose elements were all initialized to 2. By setting it to such a large number, the forget gate, with its sigmoid function, is consequently initialized to a value that is close to 1, preventing the network to forget at initial time-steps, enabling gradient flow and thus allowing LSTM to learn to solve problems with long-range dependencies [8].

The previous summarize the Python implemented LSTM forward pass, which leads to a total of 17 trainable parameters.

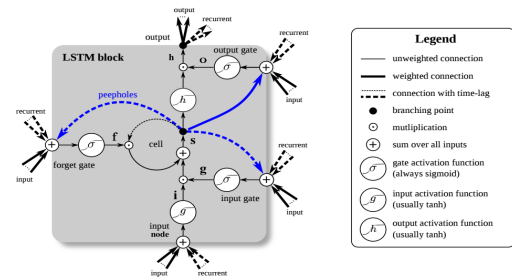


Figure 1: Vanilla LSTM schematic with one hidden layer and one memory cell or LSTM block. Edited from Greff. K et al.[9]

LSTM network was trained by minibatch gradient descent method using the Adaptive Moment Estimation Optimizer [10]. The error function used was Huber Loss described by Huber in 1964 [11], less sensitive to outliers in data than the squared error loss. At every training epoch the training procedure was done by Truncated Backpropagation Through Time algorithm in which only a fixed n (n =number of unrollings) number of previous time-steps was used for propagating the error. After every training epoch, the cell state \mathbf{s} and the output of the LSTM \mathbf{h} were reset to zero.

In addition, by way of a precaution, to address possible exploding gradient problems, gradient clipping technique [12] was implemented: gradients for all parameters were shrank by a global ratio when its global norm exceeded a clipping norm which was experimentally set to 1.25.

Finally, dropout and L2-regularization techniques were used to prevent overfitting.

2.1. Offline experimental methodology

LSTM decoder performance was tested offline in a center-out task which aimed to decode position of a cursor displayed on a screen controlled by a monkey using a hand-held joystick, from its brain neural data. The data was recorded from an experiment conducted in Nicolelis Laboratory (Duke University, North Carolina, USA) in an adult rhesus macaque which was chronically implanted in both hemispheres with microwire arrays in multiple cortical areas. Spiking activities in the primary motor cortex (M1) and primary somatosensory cortex in both hemispheres were recorded and sorted using template matching algorithms within commercially available software (Plexon Inc., Dallas, TX). Z-scored neural spike count of 50ms time bin were used as input for the network. 2 session datasets with a duration of approximately 1 hour and the other 30 minutes were used to evaluate the performance of the decoder. The first session contained neural data of 635 neurons and the second 406.

Optimization of the hyperparameters describing the architecture of the network to achieve the best decoder performance as judged by mean-squared Euclidean distance statistic (MSE) was done by grid search. The *Duke Shared Cluster Resource* (DSCR) was used to optimize 5 different parameters: number of unrollings for every training epoch, number of neurons in the hidden layer, L2-regularization parameter, dropout probability and number of outputs to decode (only cursor position or cursor position and velocity).

2.2. Online experimental methodology

LSTM decoder was tested in a real-time experiment in which Monkey C was implementing an 8-peripheral target center-out task. Monkey C, an adult rhesus macaque, was chronically implanted with microwire arrays in multiple cortical areas. Spiking activities in the left M1 and premotor dorsal cortex (PMd) were recorded and sorted using the same template matching algorithms. All animal procedures were performed in accordance with the National Research Councils Guide for the Care and Use of Laboratory Animals and were approved by the Duke University Institutional Animal Care and Use Committee. As an average, Monkey C had a total of 150 neurons recorded, number which could slightly vary from day to day after sorting procedure.

So as to train LSTM decoder, neural data and cursor position were recorded while Monkey C was performing center-out task using the joystick to move a virtual cursor to specified targets located along the periphery and the center of a circle. The subject had to achieve the target within specific time and hold at the target for 1000ms to successfully complete the trial and get a liquid reward. Manual control was done approximately for 4 minutes so as to obtain an average of 2500 slices of neural spike count of 50 or 100ms bin size training data. An analog 3-axis potentiometer joystick (CH-400R-P3, Hangzhou Chuang Hong Electric Co.) was used to capture hand motion data. Only the x and y axes were used in these experiments. After training, cursor changed to be brain-controlled although

monkey was still allowed to move the joystick. To assess LSTM decoder performance, a 10th order UKF decoder recently implemented in Nicolelis Laboratory [13] was alternately used with LSTM, switching after approximately 5 minute experiment.

3. Results

The performance of the decoder in the offline center-out task computed as an average across the 2 session datasets and for the 5-fold crossvalidation sets was evaluated in terms of Pearson correlation and obtained an $r_x=0.9001\pm0.0219$ and $r_y=0.8891\pm0.0409$ ($\mu\pm\text{SEM}$), being r_i the Pearson correlation for position coordinate i and SEM the standard error of the mean (see Figure 2). L2-norm Wiener decoder, already implemented in Nicolelis Laboratory to brain-control a wheelchair by decoding rotational and translational wheelchair velocities from monkey brain data [14] was used to compare performance among the 2 decoders. LSTM substantially outperformed Wiener. A Wilcoxon signed-rank test comparing paired differences between the two decoder performances for every k-fold crossvalidation and every session rejected the null hypothesis at the 0.0039 and 0.002 significance level for covariate x and y respectively.

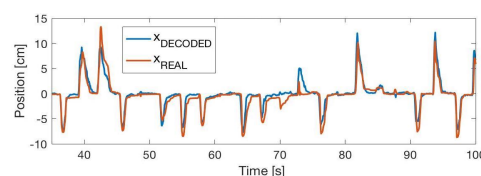


Figure 2: Offline decoded x cursor position on screen during manual control. It shows part of one of the 5-fold crossvalidation results in Session 9, ($r_x=0.9411$) for the whole crossvalidation set

In the online experiment, LSTM decoder was trained to generate monkey arm kinematics data from multi-unit arrays implanted in PMd/M1 in a center-out 8 reach task. LSTM decoder performance was compared to joystick-control and UKF decoder control by means of four statistics: average number of successful trials, trajectory length to target, trajectory deviation from a straight line to target and target acquire time. The number of successful trials for all 3 conditions (manual, LSTM and UKF) was computed as an average among 2 session experiment days considering the total number of trials done with every specific condition. The success rate across all trials was 100%, 92.17% and 88.59% for motor control, LSTM control and UKF control respectively. LSTM also outperforms UKF when it comes to both trajectory deviation and trajectory length to target. LSTM cursor moved smoothly and straight to the target, while UKF took longer paths to target and suffered from high jittering (see Figure 3), which prevented the cursor from staying inside the target for 1000ms as soon as the target size was reduced. Although the shortest trials were reported for LSTM control, LSTM target acquire time was higher than for UKF, probably due to a few really long duration trials which increased the median of the statistic. More experiments need to be done.

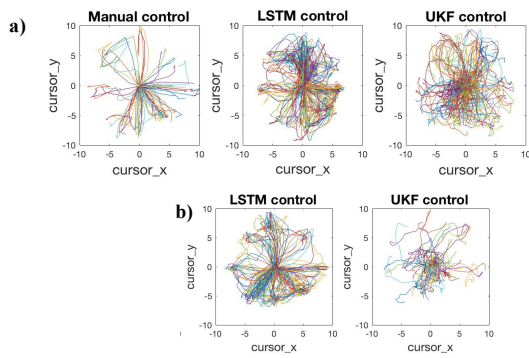


Figure 3: Comparison of cursor trajectories during center-out task when using manual control, LSTM and UKF brain control for a) Session 1 and b) 2

A 1000-permutation test was computed so as to test whether the statistics were significantly different among the two tested decoders. For both sessions, LSTM deviation from a straight line was significantly lower than UKF ($\alpha=0.01$). Trajectory length was lower than UKF for both sessions but the difference was only significant for Session 2 (see Figure 4). Taken together the LSTM online performance exceeded that of the 10th order UKF, as judged by the number of correctly performed trials, trajectory straightness and trajectory length as measures of accuracy.

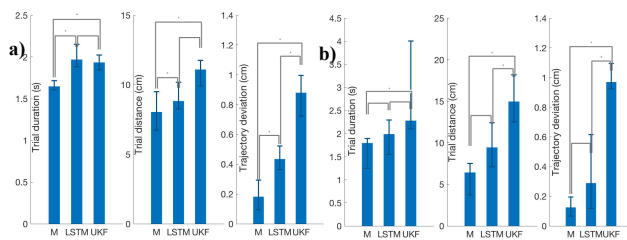


Figure 4: Comparison of trajectory deviation, trajectory length and time to target, between manual control (M), UKF and LSTM brain control during a) Session 1 and b) Session 2. ‘*’ symbol represents there is a statistical difference in the two groups ($\alpha=0.01$)

4. Conclusion

In this study, we aimed to test whether LSTM neural network could be used as an algorithm decoder for BMI approaches. One of the huge advantages is that it does not need of a predefined parametric form to model the relation between the neural data and kinematics but it is able to infer through training the relation between the activity of real neurons with their own past and the delayed motor command they cause. Due to its two main properties: network dynamics provided by its recurrent connections and nonlinear and distributed computation, it seems to fulfill all criteria for an excellent BMI decoder. The results proved that LSTM offline decoding of position of a cursor on a screen during a monkey center-out task outperformed one of the most used decoders, the L2-norm Wiener decoder algorithm. Most importantly, LSTM decoder was able to decode position of a cursor in a real-time experiment, outperforming the current state-of-the-art 10th order UKF, as measured by trajectory deviation from straight line and trajectory length, improvements which

were both statistically significant. In addition, success trial rate was also increased by 3%.

There are some key next steps to be done as part of further expanding the capabilities of LSTM as a BMI decoder. Nevertheless, taken together, the results obtained suggest that the implemented LSTM decoder is a powerful tool for BMI decoder offline, and more importantly, online applications, which could be further used in the near future for other tasks, such as wheelchair navigation.

References

- [1] Z. Li, J. E. O’Doherty, T. L. Hanson, M. A. Lebedev, C. S. Henriquez, and M. A. Nicolelis, “Unscented Kalman filter for brain-machine interfaces,” *PLoS.One.*, vol. 4, no. 1932–6203 (Electronic), p. e6243, 2009.
- [2] D. Sussillo et al., “A recurrent neural network for closed-loop intracortical brain-machine interface decoders,” *J. Neural Eng.*, vol. 9, no. 2, p. 26027, 2012.
- [3] Y. Bengio, P. Simard, and P. Frasconi, “Learning Long-Term Dependencies with Gradient Descent is Difficult,” *IEEE Trans. Neural Networks*, vol. 5, no. 2, pp. 157–166, 1994.
- [4] A. Graves and J. Schmidhuber, “Framewise phoneme classification with bidirectional LSTM networks,” in *Proceedings of the International Joint Conference on Neural Networks*, 2005, vol. 4, pp. 2047–2052.
- [5] F. A. Gers, J. Schmidhuber, and F. Cummins, “Learning to Forget: Continual Prediction with LSTM,” *Neural Comput.*, vol. 12, no. 10, pp. 2451–2471, 2000.
- [6] F. A. Gers and J. Schmidhuber, “Recurrent nets that time and count,” in *Proceedings of the IEEE-INNS-ENNS International Joint Conference on Neural Networks. IJCNN 2000. Neural Computing: New Challenges and Perspectives for the New Millennium*, 2000, pp. 189–194 vol.3.
- [7] S. Hochreiter and J. J. Schmidhuber, “Long short-term memory,” *Neural Comput.*, vol. 9, no. 8, pp. 1–32, 1997.
- [8] W. Zaremba, I. Sutskever, and O. Vinyals, “Recurrent Neural Network Regularization,” *Icml*, no. 2013, pp. 1–8, 2014.
- [9] K. Greff, R. K. Srivastava, J. Koutnik, B. R. Steunebrink, and J. Schmidhuber, “LSTM: A Search Space Odyssey,” *IEEE Transactions on Neural Networks and Learning Systems*, 2016.
- [10] D. P. Kingma and J. L. Ba, “Adam: a Method for Stochastic Optimization,” *Int. Conf. Learn. Represent.* 2015, pp. 1–15, 2015.
- [11] P. J. Huber, “Robust Estimation of a Location Parameter,” *Ann. Math. Stat.*, vol. 35, no. 1, pp. 73–101, 1964.
- [12] R. Pascanu, T. Mikolov, and Y. Bengio, “On the Difficulties of Training Recurrent Neural Networks,” *Icml*, no. 2, pp. 1–9, 2013.
- [13] S. Li, J. Li, and Z. Li, “An improved unscented kalman filter based decoder for cortical brain-machine interfaces,” *Front. Neurosci.*, vol. 10, no. DEC, 2016.
- [14] S. Rajangam et al., “Wireless Cortical Brain-Machine Interface for Whole-Body Navigation in Primates,” *Sci. Rep.*, vol. 6, no. 1, p. 22170, 2016.

Análisis Numérico del Efecto de la Termoforesis para la Separación de Diferentes Poblaciones de Exosomas

A. Errarte¹, M. Aginagalde¹, A. Martín¹, E. González³, I. Iloro^{2,5}, J. M. Falcón-Pérez^{3,4}, F. Elorza^{2,5}, M. Bou-Ali¹.

1. ¹ Manufacturing Department, MGEP Mondragon Goi Eskola Politeknikoa, Loramendi 4 Apartado 23, 20500 Mondragon, Spain. (mbouali@mondragon.edu)
2. CIC bioGUNE, Parque Tecnológico de Bizkaia, Edificio 801 A, 48160 Derio, Spain.
3. Exosomes Lab., CIC bioGUNE, CIBERehd, Parque Tecnológico de Bizkaia, Edificio 801 A, 48160 Derio, Spain.
4. IKERBASQUE Research Foundation, Bilbao, Spain.
5. CIBERehd, ProteoRed-ISCHII.

Resumen

Los sistemas microfluídicos han demostrado ser una alternativa prometedora ante procesos convencionales de separación y caracterización. Este trabajo muestra el estudio numérico del fenómeno de la termoforesis en un microdispositivo para la separación de diferentes poblaciones de exosomas (vesículas entre 40-250nm liberadas por la mayoría de las células) en base a su tamaño. Empleando el software ANSYS Fluent v.16.0 se han analizado diferentes modelos geométricos del microdispositivo, gradientes de temperatura entre la pared superior e inferior y flujos de entrada, con el fin de determinar la trayectoria de los exosomas a través del dispositivo microfluídico y extraer las diferentes poblaciones. En base a los resultados obtenidos se muestra el dispositivo propuesto para la fabricación de un dispositivo eficiente.

1. Introducción

Las técnicas de detección y diagnóstico médico, como las técnicas de laboratorio han avanzado considerablemente durante los últimos años [1], [2]. Varios estudios han demostrado la importancia de la miniaturización en la biotecnología, por lo que los sistemas microfluídicos se han convertido en una prometedora alternativa a las técnicas de investigación y laboratorio convencionales; los volúmenes de muestras y reactivos utilizados en los experimentos son menores, debido a su tamaño los equipos son generalmente portátiles y se pueden realizar más de una acción simultáneamente obteniendo información cualitativa y cuantitativa reduciendo el tiempo de análisis [3].

En este escenario, el estudio de los exosomas está avanzando rápidamente ya que son vesículas de gran importancia como marcadores biológicos en el desarrollo de la biopsia de fluidos biológicos.

Los exosomas son pequeñas vesículas (40-250nm) liberadas al medio extracelular por la mayoría de los tipos celulares. Estas vesículas formadas por una bicapa lipídica pueden contener en su interior lípidos, proteínas, RNA mensajero (mRNA), micro RNA (miRNA), metabolitos o proteínas específicas de la célula que las libera [4], [5].

Durante las últimas décadas, los exosomas han sido considerados desechos celulares. El estudio de los componentes, en cambio, ha demostrado su gran potencial en el descubrimiento de marcadores biológicos que pueden ser directamente asociados con patologías como el cáncer o el Alzheimer, ya que trabajan como mensajeros celulares [4]. Además, pueden contener información relevante sobre el estado en el que se encuentra la célula, permitiendo definir la tipología, localización y grado de la patología.

Uno de los principales objetivos de la medicina preventiva aborda el desarrollo de nuevas técnicas de purificación que ayuden a analizar los marcadores biológicos de una manera rápida, barata y no invasiva [6], [7]. Por esta razón, los exosomas han sido extraídos por casi todos los fluidos corporales como la orina, el plasma o el líquido sinovial. No obstante, las técnicas de aislamiento actuales han dificultado el avance de las investigaciones debido a los largos y laboriosos procesos [4], [8], [9]. Con el objetivo de obtener una técnica de aislamiento rápida, fácil y barata, se ha diseñado un microdispositivo donde se han empleado gradientes de temperatura para direccionar, estratificar y separar diferentes poblaciones de exosomas en base a su tamaño.

La termoforesis es la generación de un gradiente de concentraciones inducido por un gradiente de temperatura. Este fenómeno es un transporte de partículas adicional a la difusión donde el flujo másico de una mezcla multicomponente se define como [10]:

$$\vec{J}_i = -\rho \left(\sum_{k=1}^{n-1} D_{ik} \nabla c_k + D'_{T,i} \nabla T \right) \quad i=1, \dots, n-1$$

donde \vec{J}_i es el flujo másico del componente i , ρ es la densidad de la mezcla, D_{ik} es el tensor de la difusión molecular, ∇c_k es el gradiente espacial de la fracción másica del componente k , $D'_{T,i}$ es el coeficiente de termodifusión del componente i , T es la temperatura y

∇T es el gradiente espacial de temperatura a través de la mezcla.

La magnitud representante del fenómeno de la termodifusión es el coeficiente Soret, que en una mezcla binaria se define como la relación entre el coeficiente de termodifusión y el coeficiente de difusión molecular, $S_T = D_T / D$.

Cuando una suspensión coloidal es posicionada ante un gradiente de temperatura, las partículas se desplazan hacia la zona caliente o fría a una velocidad de arrastre uniforme $v_T = -D_T \nabla T$, llegando a un estado estacionario de concentraciones [11], [12].

El coeficiente Soret puede ser positivo o negativo dependiendo de la dirección de desplazamiento del componente base. Cuando $S'_{T,i} > 0$, la suspensión se denomina termofóbica, donde el componente más denso se mueve hacia la zona fría, mientras que el componente menos denso se desplaza hacia la zona caliente. La opuesta y menos común tendencia de desplazamiento se define como termofílica. A consecuencia del desplazamiento de los diferentes componentes, se genera un gradiente de concentraciones y con el objetivo de homogenizar la mezcla, se genera otro flujo en la dirección opuesta debido a la difusión molecular.

En base a este fenómeno, este trabajo analiza numéricamente este estudio y propone un nuevo microdispositivo microfluídico para controlar el desplazamiento de los exosomas y separar diferentes poblaciones bajo el efecto del gradiente térmico.

2. Análisis numérico

El estudio numérico se ha llevado a cabo mediante el software ANSYS Fluent v.16.0. En primer lugar, se ha analizado la tendencia de desplazamiento de las vesículas ante un gradiente de temperatura. A continuación, se ha estudiado la extracción de los exosomas, y finalmente, en base a los resultados obtenidos se propone un dispositivo final para la fabricación. Durante todas las simulaciones se describen tres apartados diferentes: el dominio geométrico, el modelo numérico y el resultado.

2.1. Comportamiento del exosoma ante un gradiente térmico

Dominio geométrico

En primer lugar, con el fin de analizar la tendencia de desplazamiento de los exosomas ante el gradiente térmico, se ha ideado un canal rectangular bidimensional tal y como muestra la Figura 1.

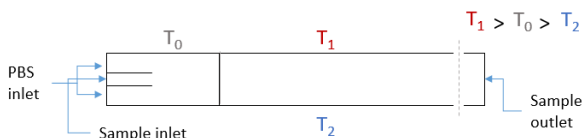


Figura 1: Esquema del microdispositivo estudiado.

En la entrada, se ha establecido un citómetro para limitar la zona de entrada de los exosomas y aplicar un gradiente

de temperatura homogéneo a toda la muestra. En cuanto a la altura, la cavidad central se ha establecido como 1/5 de la altura total del dispositivo donde se han analizado alturas diferentes: 50 μ m, 100 μ m, 200 μ m, 400 μ m, 800 μ m and 1600 μ m. Para la salida del flujo se ha establecido una única salida, ya que en esta primera simulación únicamente se va a analizar el perfil de desplazamiento.

Modelo numérico

La muestra de exosomas consta de una población de vesículas suspendida en PBS, previamente tratada y aislada de otros tipos celulares. En base a la naturaleza de la muestra, el modelo de simulación empleado ha sido el DPM, donde se ha definido una población de exosomas entre 40 y 250 nm [13], [14]. La muestra ha sido introducida por la cavidad central del citómetro a la misma velocidad que el fluido portador y una temperatura media de 298.16 K.

Las partículas suspendidas han sido estudiadas en el flujo laminar empleando el método Eulerian-Lagrangian, donde se ha analizado el desplazamiento de cada una de las vesículas.

La fase continua y discreta intercambian calor, masa y momento, pero la interacción entre las vesículas ha sido ignorada debido a su baja concentración, no obstante, la fuerza termoforética ha sido activada. Para la introducción del coeficiente de termodifusión se ha realizado un cambio de variable de acuerdo con el trabajo de Eslamian *et al.* [15], y se ha introducido empleando una Función Definida por el Usuario (UDF), definiendo el coeficiente de termodifusión en función del diámetro de las partículas [16]:

$$D_{T \text{ fluent}} = 6\pi \cdot \mu \cdot T \cdot D_{T \text{ exp}} \cdot \frac{P_{DIAM(p)}}{2}$$

donde μ es la viscosidad, $D_{T \text{ exp}}$ es el coeficiente de termodifusión experimental y $P_{DIAM(p)}$ es el diámetro de las partículas. Por otra parte, al tratarse de partículas submicrométricas, se ha activado la fuerza Saffman Lift.

Al mismo tiempo, se han definido las propiedades de los materiales presentes en la mezcla: exosomas y PBS. En el caso del fluido portador, fue determinado en el Laboratorio de Mecánica de Fluidos de Mondragon Unibertsitatea [17]. En cuanto a los exosomas, se ha partido de datos de moléculas sintéticas parecidas, los liposomas.

Para finalizar con el modelo numérico se han impuesto las condiciones de contorno y trabajo mostradas en la Tabla 1:

Tabla 1: Condiciones de contorno aplicadas.

Condiciones de contorno	
Pared Sup.	302.16 K
Pared Inf.	294.16 K
Citómetro	298.16
V. Entrada	Dependiente del caso
Outlet	Outflow=1

Con el fin de analizar diferentes separaciones se han definido varias velocidades de entrada, tanto del flujo portador como de la muestra. Se ha definido el parámetro $f_q = \frac{Q_c}{Q_r}$, relación entre el flujo de entrada del citómetro y el flujo total. Los valores empleados han sido 0.2, 0.1, 0.05 y 0.025 para unas velocidades de entrada totales de 50, 100 y 200 ml/min, para cada una de las alturas de dispositivo estudiadas.

Resultados

Todas las simulaciones han mostrado un desplazamiento de las vesículas hacia la pared fría. En cuanto a la separación poblacional, solamente algunas condiciones hacen posible su separación (Figura 2).

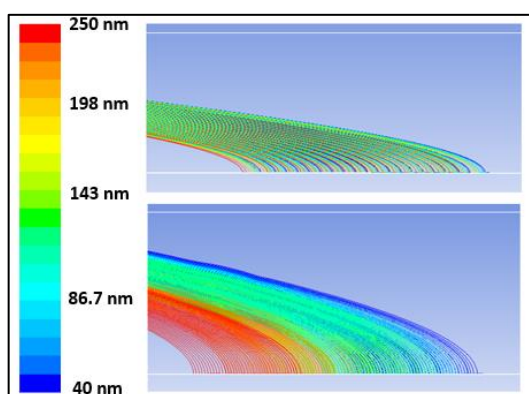


Figura 2: Desplazamiento de los exosomas hacia la pared fría (zona de precipitación).

Entre los casos donde se ha obtenido una separación poblacional, se ha realizado un estudio del grado de separación de cada uno, donde se ha visto que los casos con menor número de Reynolds y mayor relación de flujos de entrada, mayor es el grado de estratificación.

Aparte del grado de estratificación, se ha analizado también, el tiempo de separación seleccionando. Como ejemplo de un caso, donde la separación es alta y el tiempo de procesamiento es relativamente bajo (~ 1.5 h): 400 μm , flujo total de entrada debe ser de 100 ml/min y relación de flujos de entrada 0.025.

2.2. Extracción de los exosomas

Tras seleccionar las condiciones de trabajo idóneas, se ha simulado la extracción de las vesículas. Para ello, se ha empleado el mismo modelo realizando cambios en las condiciones de contorno respecto a las salidas.

Dominio geométrico

En este caso, se han establecido dos salidas en la pared inferior donde se precipitan las vesículas con el fin de extraer las vesículas de mayor tamaño desde la primera salida y las de menor tamaño desde la segunda (Figura 3).

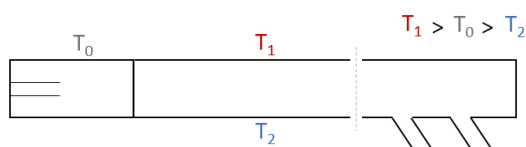


Figura 3: Microdispositivo de dos salidas simulado.

Modelo de simulación

Todos los parámetros descritos en el apartado anterior han sido mantenidos en excepción de las condiciones de entrada y salida que han sido ajustadas para direccionar las vesículas hacia las salidas. Para las condiciones de salida, se ha impuesto la condición *outflow* donde se ha de definir el porcentaje del flujo a extraer desde cada salida.

Resultados

Al analizar los resultados, se ha visto que las partículas tienden a desplazarse hacia la pared inferior, extrayendo las diferentes poblaciones desde cada una de las salidas. La mejor separación se ha obtenido al establecer un flujo total de un 5% en la salida inferior (condición *Outflow*). Además, se ha visto que los cambios en las condiciones de entrada permiten al usuario separar diferentes poblaciones (Figura 4).

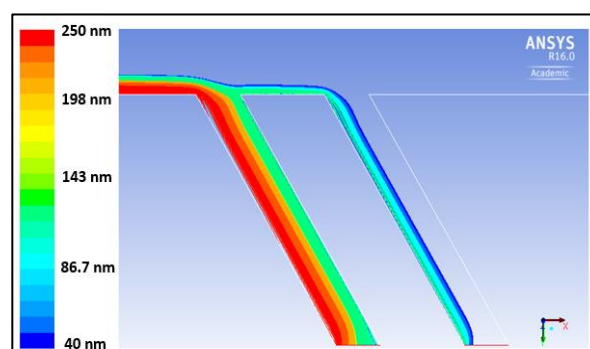


Figura 4: Resultado de simulación de dos salidas.

2.3. Estudio tridimensional

Finalmente, con el fin de definir las condiciones de contorno a emplear en las pruebas experimentales, se ha realizado un breve estudio tridimensional partiendo de la geometría anterior.

Dominio geométrico

Se ha empleado la misma geometría empleada para la extracción de los exosomas, donde se ha asignado un fondo de dispositivo de 200 μm .

Modelo de simulación

Para este modelo, se ha utilizado el modelo anterior, cambiando las condiciones de entrada y salida para direccionar las vesículas en dicha geometría.

Resultados

Como en los casos anteriores, se ha logrado separar dos poblaciones de exosomas (una entre 40-160nm y otra 160-250nm) (Figura 5). Para obtener buena separación se estableció una velocidad de entrada de 2.8 $\mu\text{m/s}$ para el PBS y 0.28 $\mu\text{m/s}$ para la muestra de exosomas (debido a la no linealidad del perfil de temperatura dentro del microdispositivo, ya que las paredes laterales se han mantenido en temperatura ambiente).

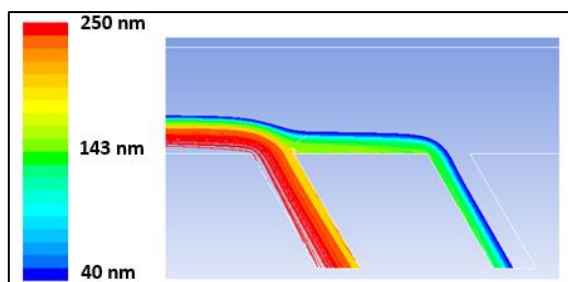


Figura 5: Resultado del estudio tridimensional.

3. Conclusiones

En este trabajo se ha estudiado numéricamente el fenómeno de la termoforesis en una muestra de interés biológico con el fin de separar diferentes poblaciones de exosomas. En primer lugar, se ha estudiado el comportamiento de las vesículas ante un gradiente de temperatura. Tras definir su movimiento, se ha posicionado dos salidas para separar al menos dos poblaciones. En cuanto a las salidas, se ha visto que los cambios en las condiciones de contorno permiten al usuario extraer diferentes poblaciones de exosomas. Finalmente, se han deducido las condiciones de trabajo a emplear en las pruebas experimentales mediante un último estudio en un microdispositivo tridimensional.

Mediante este estudio, se ha demostrado que la termomodificación es un mecanismo eficiente para separar exosomas en comparación con técnicas convencionales empleadas hasta la fecha. Todas las técnicas y geometrías analizadas se resumen en el patente número P201631380. Actualmente, se está trabajando en los procedimientos experimentales para validar el modelo numérico.

Agradecimientos

La autora quiere agradecer la ayuda de BG2015(KK-2015/0000089), Research Groups (IT009-16) y MICROXON (PI_2014_1_70) del Gobierno Vasco y TERDISOMEZ (FIS2014-58950-C2-1-P) de MINECO.

Referencias

- [1] J. M. Köhler and T. Henkel, "Chip devices for miniaturized biotechnology," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 69, no. 2, pp. 113–125, 2005.
- [2] S. Clerc and B. Roussel, "Microfluidic Applications - Yole Development Market & Technology Report," 2015.
- [3] W. Yang, "Integrated Affinity Column Capillary Electrophoresis Microdevices for Biomarker Analysis," 2010.
- [4] G. Raposo and W. Stoorvogel, "Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends," *J. Cell Biol.*, vol. 200, no. 4, pp. 373–383, 2013.
- [5] L. Palomo, E. Casal, F. Royo, D. Cabrera, S. van-Liemphd, and J. M. Falcon-Perez, "Considerations for applying metabolomics to the analysis of extracellular vesicles," *Front. Immunol.*, vol. 5, no. DEC, pp. 23–26,

- 2014.
- [6] V. R. Minciocchi, M. R. Freeman, and D. Di Vizio, "Extracellular Vesicles in Cancer: Exosomes, Microvesicles and the Emerging Role of Large Oncosomes," *Semin. Cell Dev. Biol.*, vol. 40, pp. 41–51, Apr. 2015.
- [7] H. C. Anderson, D. Mulhall, and R. Garimella, "Role of extracellular membrane vesicles in the pathogenesis of various diseases, including cancer, renal diseases, atherosclerosis, and arthritis," *Lab. Investig.*, vol. 90, no. 11, pp. 1549–1557, 2010.
- [8] C. Théry, "Exosomes: secreted vesicles and intercellular communications," *F1000 Biol. Rep.*, vol. 3, no. July, pp. 1–8, 2011.
- [9] C. Chen *et al.*, "Microfluidic isolation and transcriptome analysis of serum microvesicles," *Lab Chip*, vol. 10, no. 4, pp. 505–511, 2010.
- [10] P. Blanco, M. M. Bou-Ali, J. K. Platten, D. A. De Mezquia, J. A. Madariaga, and C. Santamaría, "Thermodiffusion coefficients of binary and ternary hydrocarbon mixtures," *J. Chem. Phys.*, vol. 132, no. 11, 2010.
- [11] R. Piazza and A. Parola, "Thermophoresis in colloidal suspensions," *J. Phys. Condens. Matter*, vol. 20, no. 15, p. 153102, Apr. 2008.
- [12] A. Mialdun and V. Shevtsova, "Communication: New approach for analysis of thermodiffusion coefficients in ternary mixtures," *J. Chem. Phys.*, vol. 138, no. 16, 2013.
- [13] T. D. Canonsburg, "ANSYS FLUENT User's Guide," *ANSYS FLUENT User's Guid.*, vol. 15317, no. November, p. 2498, 2013.
- [14] T. D. Canonsburg, "ANSYS Fluent Theory Guide," vol. 15317, no. November, pp. 724–746, 2013.
- [15] M. Eslamian and M. Z. Saghir, "Novel thermophoretic particle separators: Numerical analysis and simulation," *Appl. Therm. Eng.*, vol. 59, no. 1–2, pp. 527–534, Sep. 2013.
- [16] M. Braibanti, D. Vigolo, and R. Piazza, "Does Thermophoretic Mobility Depend on Particle Size?," *Phys. Rev. Lett.*, vol. 100, no. 10, p. 108303, Mar. 2008.
- [17] E. Lapeira *et al.*, "Transport properties of the binary mixtures of the three organic liquids toluene, methanol, and cyclohexane," *J. Chem. Phys.*, vol. 146, no. 9, 2017.

Estudio comparativo de técnicas para la detección automática de patrones interictales en señal de EEG de pacientes epilépticos

C. López Reitmaier¹, P. Alonso Singer², E. Hernando Pérez^{1,3}, I. Oropesa¹

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina, ETSI Telecomunicación, Centro de Tecnología Biomédica (CTB), Universidad Politécnica de Madrid, España, carolina.lopezr@alumnos.upm.es, {[elena](mailto:elena@gbt.tfo.upm.es), [ioropesa](mailto:ioropesa@gbt.tfo.upm.es)}@gbt.tfo.upm.es

² Servicio de Neurología y Neurofisiología Clínica, Hospital Universitario La Paz, Madrid, España, palonsosinger@gmail.com

³ Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), España

Resumen

La epilepsia es una afección neurológica grave que condiciona la calidad de vida de las personas que sufren de ella. Una de las labores de los neurólogos y neurofisiólogos consiste en revisar los Video-EEG de los pacientes epilépticos para analizar la semiología de las crisis epilépticas así como el patrón EEG crítico y los periodos intercríticos que se caracterizan por la aparición de descargas epileptiformes paroxísticas con frecuencia variable. Los registros pueden durar desde minutos hasta días, y la tarea de análisis del EEG por parte del especialista resulta lenta y agotadora. Frente esta problemática es deseable conseguir un programa de detección de eventos relevantes en el EEG que permita acortar el tiempo de análisis de los registros. El presente artículo se centra en definir un primer paso hacia el desarrollo de una aplicación que permita la detección de descargas epileptiformes interictales (DEI) de tipo punta en señales EEG de pacientes epilépticos. El objetivo es realizar un estudio comparativo entre dos métodos de detección: Filtros adaptados y la Transformada Wavelet Continua (CWT) evaluando los resultados con el parámetro de área bajo la curva (AUC) y la curva ROC. Los resultados muestran que el uso de la CWT es más eficiente a la hora de detectar puntas dentro de señales EEG que el Filtro adaptado. A pesar de los buenos resultados obtenidos, es necesario verificar ambos métodos con nuevos registros de datos y mejorar los procesos de automatización para conseguir un programa de detección fiable.

1. Introducción

La Sociedad Española de Neurología define la epilepsia como una alteración del cerebro caracterizada por una predisposición duradera para generar crisis epilépticas [1]. Una crisis epiléptica consiste en la presencia transitoria de síntomas y/o signos debidos a una actividad anormal excesiva y sincrona de un grupo o red de neuronas.

Aunque el registro de una crisis clínica con EEG concurrente es el *gold standard* para el diagnóstico de la epilepsia, viene a menudo acompañado de movimientos bruscos que incorporan ruido a la señal captada por el EEG, dificultando de esta forma su análisis. Además, existe la posibilidad de que un paciente que se está realizando el registro no experimente crisis durante la prueba. Por ello es de gran importancia el registro interictal (entre crisis) que proporciona una señal no artefactada y más sencilla de analizar visualmente.

El EEG interictal en pacientes epilépticos puede ser normal, pero suele caracterizarse por la presencia de descargas epileptiformes interictales que aparecen con mayor o menor frecuencia. Estas descargas se encuentran bien descritas en la literatura [1]. Las más comunes son las puntas, ondas agudas y los llamados complejos punta-onda, onda aguda-onda lenta y polipunta. Determinadas descargas epileptiformes interictales (DEI) y su localización en los distintos canales del EEG se asocian a síndromes epilépticos concretos.

Una de las labores de los neurólogos y neurofisiólogos, entre otras, es recorrer el registro encefalográfico intercrítico en busca de descargas epileptiformes interictales, que dan información acerca del área epileptógena. Se trata de una tarea laboriosa y que consume gran parte del tiempo de trabajo del médico especialista, sobre todo en los registros prolongados, que puede acabar en desmotivación y falta de concentración. Esto puede llevar a que no se revise la totalidad del registro de un paciente o que se pasen por alto eventos que podrían ser de gran relevancia.

Desde los años 70 se investiga en algoritmos que detectan de forma automática algunas características de interés en los registros EEG epilépticos. Sin embargo, la dificultad para distinguir entre eventos anormales y normales, dada la complejidad y variabilidad de ondas dentro del EEG y de cada paciente, no ha permitido establecer aún métodos eficientes.

El-Gohary et al. [2], *Lopes da Silva et al.* [3] y *Sankar et al.* [4], utilizan en sus respectivos estudios Filtros adaptados (*template matching*). Obtienen el *template* o patrón como la media de las puntas encontradas en los registros EEG multicanal. La señal se analiza con este patrón. Los resultados del análisis son limitados para la detección de patrones epileptiformes, ya que dentro del EEG existen muchos transitorios normales, anormales o artefactos que podrían cuadrar con la definición del patrón.

Los métodos basados en aproximaciones paramétricas asumen el ruido como una señal local estacionaria y las DEI son detectadas como una desviación de la estacionaridad. En el estudio de *Tzallas et al.* [5] la señal es previamente procesada para acentuar las puntas y atenuar la actividad de fondo, y posteriormente se pasa la

señal por un umbral para determinar la localización de las puntas. El inconveniente de estos métodos es que las puntas resultan ser más estacionarias de lo esperado.

Entre los métodos de análisis tiempo-frecuencia destaca el uso de *Wavelets*. El estudio de *Faust et al.* [6] muestra un resumen de las publicaciones que usan la Transformada Wavelet, tanto continua como discreta para la extracción de características epileptiformes en el EEG. A pesar de que la librería de *Wavelets* está limitada a un cierto número de familias *Wavelet*, los autores del estudio concluyen que las *Wavelets* son el método a elegir para el análisis de anomalías en el EEG, y que ningún otro método proporciona información tan relevante como el análisis *Wavelet*.

Por último, los métodos basados en redes neuronales artificiales tienden a mejorar los procesos de automatización mediante el entrenamiento de unidades básicas de redes para el reconocimiento de patrones [7]. El autor resalta que es necesario que un grupo de neurofisiólogos estandarice los datos de DEI para proporcionar al sistema los correctos ejemplos de entrenamiento.

El objetivo de este trabajo es realizar una comparativa de métodos: *Filtros adaptados* y *Wavelets*, capaces de detectar eventos propensos a ser puntas epileptiformes en el EEG de pacientes epilépticos. Este es un trabajo preliminar, con el fin de definir un primer paso hacia el desarrollo de una aplicación para la detección automática de DEI.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Los registros encefalográficos fueron adquiridos de pacientes epilépticos reales del Hospital Universitario La Paz, analizados visualmente y etiquetados junto con el médico especialista en neurología y neurofisiología. En concreto se exportaron desde el sistema de monitorización prolongada Video-EEG NicoletOne™ (Natus Medical Inc., USA) en formato EDF+ (European Data Format) y montaje referencial según el Sistema Internacional 10-20 y electrodos adicionales temporo-basales.

De cada uno de los registros de los pacientes se seleccionó la señal de los canales con evidencia clara de descargas interictales patológicas de este tipo. Mediante el *toolbox* EEGlab [8] se importaron las señales y se realizaron recortes de distinta duración. Estos recortes se exportaron a formato *.csv y se importaron en la versión 2016b de Matlab (MathWorks, USA) almacenándolos en archivos *.mat. De esta forma, se registraron un total de 18 señales recortadas procedentes de distintos electrodos de registros de 6 pacientes con evidencia de DEI de tipo punta.

Se acordó con el especialista la detección de la descarga interictal epileptiforme de tipo punta ya que se considera la más patológica y su presencia en el EEG constituye un fuerte indicador de epilepsia. Las puntas son ondas de polaridad negativa con una o varias fases cuya terminación es en pico y tienen una duración menor a

70ms. La amplitud de las puntas sobrepasa a la del ritmo de base donde aparecen por lo menos en un 50%.

2.2. Métodos

El primer paso consistió en realizar un filtrado sobre las señales para eliminar posibles artefactos y conseguir la señal más limpia posible. El ruido por fuentes externas se filtró antes de exportar las señales con el programa NicoletOne™ usado en el hospital.

Las señales procedentes de los distintos canales se filtraron primero con un filtro IIR paso bajo *Butterworth* de orden 2 y frecuencia de corte 35Hz para eliminar artefactos de elevada frecuencia como las señales electromiográficas. Seguidamente se aplicó un filtro paso alto *Butterworth* de orden 2 con frecuencia de corte 0.5Hz para filtrar artefactos de baja frecuencia como las señales electrogalvánicas y los artefactos de movimiento.

2.2.1 Filtro adaptado

Si disponemos de un patrón de un evento que queremos detectar dentro de una señal, es posible diseñar un filtro que encuentre las características del evento en la señal de entrada y maximice la relación señal ruido (SNR) de la salida. Si una señal contiene repeticiones de un cierto evento y es pasada a través del Filtro adaptado, la salida de éste será la correlación entre la señal y el patrón, que será mayor en los instantes de ocurrencia del evento [9].

Para la implementación del método se usó como patrón la media de las puntas más identificativas seleccionadas por el médico especialista en las señales utilizadas en este estudio (Ilustración 1, izquierda).

El Filtro adaptado se implementó como un filtro FIR. La salida del filtro, normalizada y rectificadas, proporciona una medida de la similitud entre la señal de entrada y el patrón.

2.2.2 Transformada Wavelet Continua (CWT)

El análisis de señales mediante la Transformada Wavelet consiste en descomponer la señal en versiones escaladas y trasladadas de una *Wavelet* original conocida como la *Wavelet madre*.

La CWT intenta expresar una señal, $x(t)$, continua en el tiempo, mediante una expansión de términos o coeficientes proporcionales al producto interno entre la señal y diferentes versiones escaladas y trasladadas de la *Wavelet madre* $\psi(t)$.

$$CWT(a, b) = \frac{1}{\sqrt{a}} \int_{-\infty}^{\infty} x(t) \psi\left(\frac{t-b}{a}\right) dt$$

Se utilizó la *Daubechie 4 (db4)* como *Wavelet madre* (Ilustración 1, derecha). Resulta ser la más apropiada para el análisis de registros EEG con puntas epilépticas, ya que las *Wavelets* de menor y mayor orden dentro de la misma familia no definen adecuadamente el patrón punta epileptiforme [10].

Para llevar a cabo la implementación de la CWT sobre las señales EEG, se siguieron las indicaciones del estudio de *Chaibi et al.* [11]. Para ello, se dividió la banda de interés

de eventos epileptógenos (2-20Hz), en dos bandas de frecuencia 4-8Hz y de 8-16Hz.

La Transformada Wavelet genera como resultado una matriz de coeficientes. Cuanto mayor sea el valor del coeficiente C, mayor es la similitud entre la *Wavelet madre* y la parte de ese tramo de señal.

Una vez obtenida la matriz C, se seleccionaron los coeficientes correspondientes a las filas de las bandas de frecuencia 4-8Hz y 8-16Hz y se sacó la señal media de los coeficientes de cada una de estas bandas. Seguidamente esta señal fue rectificada y suavizada con un filtro de suavizado de orden 5.

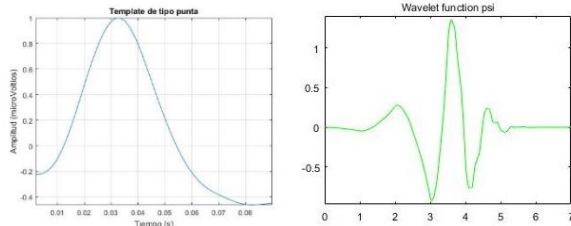


Ilustración 1: Izquierda: Patrón de tipo punta. Derecha: Wavelet madre Daubechies 4 (Db4).

2.2.3 Evaluación

Para evaluar los métodos presentados y su detección mediante umbral, se utilizó como base de análisis el parámetro AUC (Area Under Curve) que toma valores entre 1 (clasificador perfecto) y 0.5 (clasificador aleatorio), y la curva ROC (Receiver Operating Characteristic), representación gráfica de la tasa de éxito en el eje y frente a la tasa de falsos positivos (TFP), complementario a la especificidad, en el eje x, según se varía el umbral o criterio para detectar los eventos.

3. Resultados y discusión

Las Ilustraciones 2 y 3 muestran un ejemplo del resultado de la implementación del Filtro adaptado y de la CWT respectivamente para la detección de puntas. En ambas figuras vemos que en los momentos de ocurrencia de los eventos de tipo punta (segundos 3,5; 3,7; 3,9; 6; 7,8) la correlación es mayor que durante el resto de la señal.

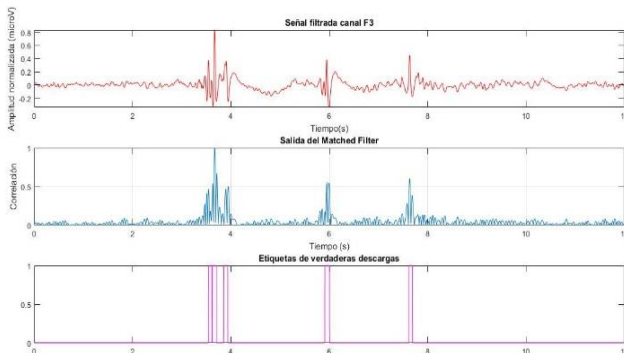


Ilustración 1: Resultado de la implementación del filtro adaptado en la señal EEG del registro 2 y canal F3 con evidencia de DEI tipo punta. Arriba: señal EEG filtrada. Medio: salida del filtro adaptado. Abajo: etiquetas de las verdaderas descargas marcadas por el especialista.

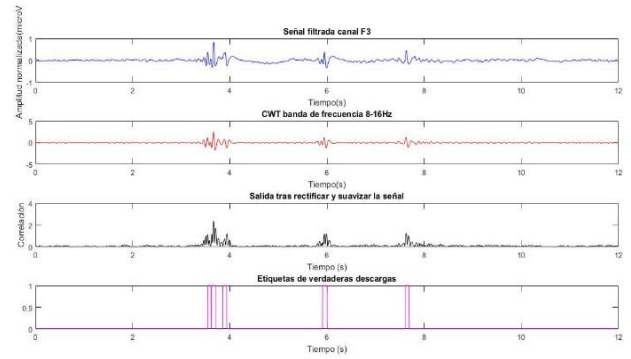


Ilustración 2: Resultado de la implementación de CWT en la señal EEG del registro 2 y canal F3 con evidencia de DEI tipo punta. Primera fila: señal filtrada y normalizada, Segunda fila: señal resultante tras aplicar la media a los coeficientes correspondientes a la banda 8-16Hz. Tercera fila: señal rectificada y suavizada. Cuarta fila: etiquetas de las verdaderas descargas marcadas por el especialista.

La Tabla 1 muestra los resultados del parámetro AUC ante la detección de puntas. Para ambos métodos, Filtro adaptado y CWT en banda de frecuencia 8-16Hz, los mejores resultados se obtienen en el canal F4 del registro 2. Por el contrario, los peores resultados se dan en el canal Fp2 del registro 5. Ambos registros tienen una duración de 12 segundos y proceden de dos pacientes diferentes con descargas frontopolares y frontales mediales bilaterales. En el caso de la CWT para la banda de frecuencia de 4-8Hz se obtienen los mejores resultados para los canales del registro 2 y el peor para el canal temporal posterior izquierdo, T5, del registro 1.

Registro	Canal	Duración	Filtro adaptado	CWT 4-8Hz	CWT 8-16Hz
1	T5	121 s	0.789	0.666	0.847
2	Fp1	12 s	0.932	0.938	0.969
	Fp2		0.921	0.911	0.971
	F3		0.943	0.953	0.963
	F4		0.951	0.942	0.985
3	Fp1	12 s	0.857	0.843	0.943
	Fp2		0.848	0.850	0.937
	F3		0.870	0.902	0.912
	F4		0.882	0.906	0.936
4	T6	10 s	0.721	0.711	0.868
5	Fp1	12 s	0.738	0.813	0.838
	Fp2		0.680	0.735	0.749
	F3		0.838	0.834	0.888
	F4		0.758	0.813	0.858
6	Fp1	12 s	0.683	0.748	0.784
	Fp2		0.680	0.712	0.812
	F3		0.824	0.817	0.869
	F4		0.809	0.738	0.862

Tabla 1: Resultados del parámetro AUC ante la detección de puntas. Los colores verde y rojo indican los mejores y peores resultados respectivamente.

Los resultados mostrados en la Tabla 1 reflejan una alta tasa de acierto para ambos métodos. Esto se debe en parte a la morfología de la DEI de tipo punta, que es bastante característica y patológica en los registros EEG y permite ser detectada con precisión. Las puntas normalmente se encuentran bien definidas y no presentan una variabilidad excesiva en distintos pacientes o registros. Por ello su

detección presenta una elevada sensibilidad como ya se había demostrado en estudios previos tanto con el método de Filtro adaptado [2-4], como con *Wavelets*, [11-14].

Dentro del análisis *Wavelet* la detección de puntas presenta una mayor resolución para la banda de frecuencia de 8-16Hz. Esto resulta lógico puesto que las puntas epileptiformes se caracterizan por presentar frecuencias elevadas, pudiendo las más rápidas llegar a superar incluso los 20Hz. Los resultados del parámetro AUC obtenidos en la banda 4-8Hz son inferiores y por lo tanto más imprecisos.

La Ilustración 4 muestra las curvas ROC para el mejor y peor registro obtenido. En la figura de la izquierda se observa como la sensibilidad y especificidad son próximas a 1; sin embargo en la figura de la derecha las curvas se aproximan a la diagonal, esto quiere decir que la TFP es mayor.

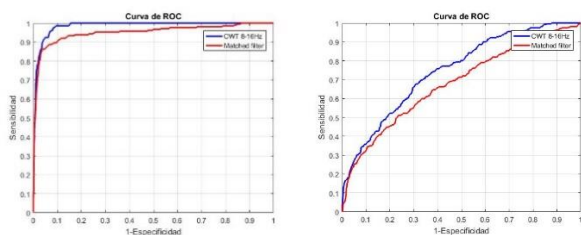


Ilustración 3: Curva ROC para los métodos CWT en banda de frecuencia 8-16Hz (azul) y filtro adaptado (rojo). Izquierda: mejor resultado, canal F4 del registro 2. Derecha: peor resultado, canal Fp2 del registro 5.

Comprando ambos métodos, aunque ambos obtienen resultados aceptables y su implementación es sencilla, las *Wavelets* presentan más ventajas a la hora de analizar la señal ya que permiten obtener información temporal y frecuencial simultáneamente, esto es, información que no se ve a simple vista en la señal y que se convierte en una herramienta muy potente a la hora de detectar características que se pueden encontrar enmascaradas. El método de Filtro adaptado, se queda más limitado a la hora de detectar patrones dentro de señales fisiológicas, y su TFP es mayor debido a la confusión con otro tipo de eventos no patológicos dentro de las señales EEG.

Es importante validar estos métodos con nuevos registros de datos, así como trabajar en los procesos de automatización y desarrollar una interfaz gráfica que permita una detección sencilla y fiable.

4. Conclusión

Los dos métodos utilizados permiten la detección de puntas. Se cumple el objetivo principal, realizar una comparativa de métodos con el fin de establecer un primer paso hacia el desarrollo de un sistema de detección de puntas interictales en señal EEG de pacientes epilépticos. Aun así, es deseable mejorar los procesos de automatización para conseguir una aplicación de detección automática que permita localizar DEI con el fin de ahorrar tiempo de análisis del especialista en neurología y neurofisiología.

Agradecimientos

Los autores quieren agradecer a todos los pacientes y personal del Servicio de Neurología y Neurofisiología Clínica del Hospital Universitario La Paz, y a Elia Pérez por sus contribuciones a este trabajo.

Referencias

- [1] J. M^a Mercadé Cerdá, J. Sancho Rieger, J. Á. Mauri Llerda, F. J. López González y X. Salas Puig, Guías diagnósticas y terapéuticas de la Sociedad Española de Neurología 2012.
- [2] El-Gohary, M., McNames, J., & Elsas, S., *User-guided interictal spike detection*, Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc, 2008, pp. 821-824.
- [3] Lopes da Silva, F. Dijk, A., Smits, H., *Detection of nonstationarities in EEGs using the autoregressive model – an application to EEGs of epileptics*, (Kunkel, H. Dolce, G. ed.), Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1975.
- [4] Sankar, R., & Natour, J., *Automatic computer analysis of transients in EEG*, Comput Biol Med, 22(6), 1992, pp. 407-422.
- [5] Tzallas, A. T., Oikonomou, V. P., & Fotiadis, D. I., *Epileptic spike detection using a Kalman filter based approach*, Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc, 1, 2006, pp. 501-504.
- [6] Oliver Faust, U. Rajendra Acharya, Hojjat Adeli & Amir Adeli, *Wavelet-based EEG processing for computer-aided seizure detection and epilepsy diagnosis*, Elsevier Seizure 26, 2015, pp. 56–64.
- [7] J. J. Halford, *Computerized epileptiform transient detection in the scalp electroencephalogram: Obstacles to progress and the example of computerized EEG interpretation*, Clinical Neurophysiology, 120, 2009, pp. 1909–1915.
- [8] A Delorme & S Makeig, EEGLAB: an open source toolbox for analysis of single-trial EEG, Journal of Neuroscience Methods 134:9-21, 2004.
- [9] Rangaraj M. Rangayyan, Biomedical Signal Analysis Second Edition, IEEE Press Series in Biomedical Engineering Metin Akay, Series Editor, 2015.
- [10] Hojjat Adeli, Ziqin Zhou, Nahid Dadmehr, *Analysis of EEG records in an epileptic patient using wavelet transform*, The Ohio State University, Columbus, OH, USA, 2002.
- [11] Sahbi Chaïbi, Tarek Lajnef, Abdelbacet Ghrob, Mounir Samet and Abdennaceur Kachouri, *A Robustness Comparison of Two Algorithms Used for EEG Spike Detection*, The Open Biomedical Engineering Journal, Volume 9, 2015.
- [12] André Rosado, Agostinho Rosa, *Automatic Detection of Epileptiform Discharges in the EEG*, Evolutionary Systems and Biomedical Engineering Laboratory (LASEEB) ISR-IST-UTL, Lisbon.
- [13] Wilmer Peña Ortega, *Detección de puntas epilépticas en señales EEG usando wavelets y redes neuronales*, Universidad EAFIT, Medellín, 2013.
- [14] Endro Yulianto, Endang Dian S. and Sari Luthfiah, *Detection of Epileptic Spike Patterns on EEG Signal of Epilepsy Patients with Wavelet Transform Method*, International Journal of Computer Science and Telecommunications, Volume 6, Issue 1, 2015.

Study and Analysis of the Effects of Psychological Stress, Mechanical Stresses and Wound Shape in Wound Healing Process both *in vivo* and *in silico*

M.Rica Rodríguez¹, A.Tejo Otero¹, L.Yndriago Acha², A.Gutiérrez-Rivera², J.Paredes¹,

A.Izeta², J.Aldazabal¹

¹ Tecnun (University of Navarra), Donostia-San Sebastián, Spain, {jaldazabal@tecnun.es}

² Biodonostia - Health Research Institute, Donostia-San Sebastián, Spain, {ander.izeta@biodonostia.org}

Abstract

Wound healing is a specific biological process related to the general phenomenon of tissue growth and regeneration, which involves the combination of cells, scaffolds, and bioactive agents to fabricate functional new tissue to replace damaged tissue. In previous research, it has been investigated that not only psychological stress can delay wound healing process but also the mechanical stresses that are produced due to the forces generated by wounding affect this process. By this way, it can be confirmed that there is a relationship between wound shape and wound healing. In our current study, we found that stresses formed due to the forces were placed mainly at wound corners. In addition, the experiments performed at Biodonostia Health Research Institute, showed that the effect of stresses formed in wound borders tend to form a new wound shape that can make it heal much faster. For instance, rectangular and triangular wounds tend to become a circular form because of the tension in the edges, meanwhile circular shape converts into a more flattened circular profile.

1. Introduction

Human skin is the outer covering of the body and plays an important role in protecting the body against pathogens and external insults. It is a living complex material composed by several heterogeneous layers. Firstly, the epidermis, is the outermost layer of the skin which consists on a network of collagen with interspersed elastic fibers (the basement membrane) covered by an epidermal keratinocyte layer. Secondly, dermis, is the layer beneath the epidermis and it provides tensile strength and elasticity to the skin. And finally, the hypodermis that is located between dermis and underlying tissues and organs. It consists of mostly adipose tissue and is the storage site of most body fat [1]. Moreover, the thickness of each skin layer varies as a function of age, body zone or hydration [2].

The human skin is exposed to frequent external injury. Therefore, different wound closure techniques have evolved from the earliest development of suturing materials to comprise resources that include synthetic sutures, absorbable, staples, tapes, and adhesive compounds [3].

Wound healing is a complex biological process related to the general phenomenon of growth and tissue regeneration in which mechanical forces regulate the quality and speed of healing. They influence the gene expression, the

synthesis of growth factors and the inflammatory mediators and cellular processes such as proliferation of many cells. The wound process can be divided into four consecutive phases: hemostasis, inflammation, proliferation and remodelling with scar formation.

1. Hemostasis: it plays a protective role in which vascular constrictions and fibrin clot formation control the bleeding.
2. Inflammation: it almost occurs simultaneously with hemostasis. It is a beneficial body's immune response in which damaged cells, irritants or pathogens are removed and the healing begins.
3. Proliferation: it happens simultaneously or after the migration phase, which involves the movement of epithelial cells and fibroblasts to the injured placed in order to replace damage tissue. During the proliferation stage, different processes happen: angiogenesis, granulation tissue formation, collagen deposition, etc.
4. Remodelling with scar formation: involves the formation of cellular connective tissue and strengthening of the new epithelium which determines the nature of the final scar.

All these phases are influenced by mechanical forces, since they directly affect cellular functions. During the wound healing process, the mechanical forces are sensed, transduced and transformed into intracellular biochemical cues. Also, mechanical forces modulate integrin-mediated processes and other mechanosensors such as gap junctions, hemichannels, transient receptor potential channels (TRP channels) and intracellular mechanosignalling pathways [4].

The application of mechanical forces may be a useful method for acceleration of cutaneous wound healing. If an external mechanical force is applied, it can be useful to reduce collagen deposition during tissue repair and scar formation. The most important forces that affect the cellular functions are tension, shear force, osmotic pressure and mechanical stimuli between cells and chemical signals [5].

The impact of stress on cutaneous wound healing process was assessed in a murine model [6]. For that, female, hairless SKH-1 mice, 6-8 weeks of age were subjected to restraint stress (RST) 3 days before and for 5 days following dorsal application of a 3.5 mm diameter full thickness punch wound, while control mice were only wounded. During this research, it was seen that a higher percent of control mice fully healed wound as compared to stressed mice. Therefore, it can be stated that the wound healing process is slower in stressed mice than in control mice. In addition, this statement can also be supported by another research [7], in which some of the virus-antibody free SKH-1 female mice, 6-8 weeks of age, were subjected to restraint stress (RST).

On the other hand, wound shape can affect the wound healing process [8]. Concave edges (positively curved edges pointing towards the removed skin) clearly advanced at a slower pace compared with convex edges (negatively curved edges pointing towards the remaining skin). This has a relationship with the mechanical forces that are mostly applied in the edges of the wound. Moreover, during wound closure [9] it was showed that actin protrusions generated traction forces and the wound closure was initially driven by cell crawling. The orientation of these forces depended on the curvature of the wound edge. It was demonstrated that the leading edge was exhibited a convex contour with traction forces pointed away from the wound. In contrast, regions exhibiting a concave contour showed that the traction forces pointed towards the wound.

The aim of this project was not only to analyze mechanical stresses distribution formed during the wound healing process in different geometries (circular, triangular and rectangular) but also to verify if applying a psychological stress could affect wound healing.

2. Materials and Methods

2.1. Animals

Animal used were C57BL/6 mice (n=18), of the 8 weeks of age, housed 1/cage on a 12 h light/dark cycle. They were obtained from Biodonostia Health Research Institute (Donostia-San Sebastián, Basque Country, Spain). Experiments were carried out after approval by the Comité de Ética de la Experimentación Animal (CEEA) of Biodonostia Institute.

2.2. Experiments fulfillment

Some mice were subjected to restraint stress (RST) [6], but instead of three stress cycles, just one cycle of 2 h was performed prior to wounding. Mice were introduced in well-ventilated 50-ml centrifuge tubes.

For generating wounds, mice were anesthetized with intraperitoneal administration 0.02mg/ml Metacam. After the dorsal area was cleaned with Chlorhexidine, two symmetrical, full thickness, 0.5 cm² were created on the dorsum of each mouse. The shapes created were: an 8 mm diameter circle, both 1 cm base and height triangular and a 1 cm base and 0.5 cm height rectangular.

Wound areas were measured using photographs that were taken until the wound was healed around a 50%, since the beginning of the experiment (Day 0), until one week. In addition, photos were also taken at Day 1, Day 3 and Day 7. Photographs of the wound were taken always with the same camera, and then, these photos were analyzed by using ImageJ. Wound size was obtained by using the following equation:

$$\text{Wound Closure [\%]} = \frac{\text{Area at } D_x [\text{cm}^2]}{\text{Area at } D_0 [\text{cm}^2]} \times 100 \quad (1)$$

Statistics were performed using MATLAB. Differences between groups over time were assessed using ANOVA in order to compare not only between the three different shapes (circular, triangular and rectangular) of the wound at a single time point but also for control and stress mice. Data is represented as mean \pm SEM. Statistical significance was determined at $p \leq 0.05$ (*), $0.001 \leq p \leq 0.01$ (**) and $p < 0.001$ (***).

2.3. In-silico wound healing model

By using engineering software CREO PARAMETRIC, it has obtained a solid piece, that is an identical copy of the wound. The pieces were divided into three parts. On one hand, the two outer parts were equivalent to the skin and the inner part was equivalent to the scab (wound). The two outer parts were separated by stitches equivalent to the seams.

Focusing on indentation test, the Young modulus of the skin was 12.5 kPa [10]. The scab mechanical properties (Young's modulus) was considered 10 times higher than the skin properties due to the stiffness that it presented. The contraction produced in the scab during the wound healing was simulated with a hypothetical temperature change in the scab. The thermal expansion coefficient used for this volume change was 0.001 C⁻¹.

By using ANSYS Workbench 16.2, mechanical stresses distribution was obtained. Solid meshing was performed with an element size of 0.4 mm. The analysis setting was made by inserting a thermal condition in the scab and decreasing the temperature from 22°C (reference temperature) to 0°C. Principal maximum stress and equivalent strain were necessary in order to analyze the obtained results.

3. Results and Discussion

3.1. Epithelization of different shapes

As it was hypothesized above, a different shape is going to have a different wound healing behavior. The initial shape area is 0.5 cm² and each step is equivalent to 3 days. On the one hand, in the *in vivo* results, for instance, the triangular shapes heal faster than compared to the circular and rectangular shapes as it can be seen in Figure 1. It is supposed to heal faster because the healing process takes place mostly in the very "sharp" corners, unlike the rectangular shape in which it tends to heal mostly from side to side, not from top to bottom as it can be observed in Figure 4.

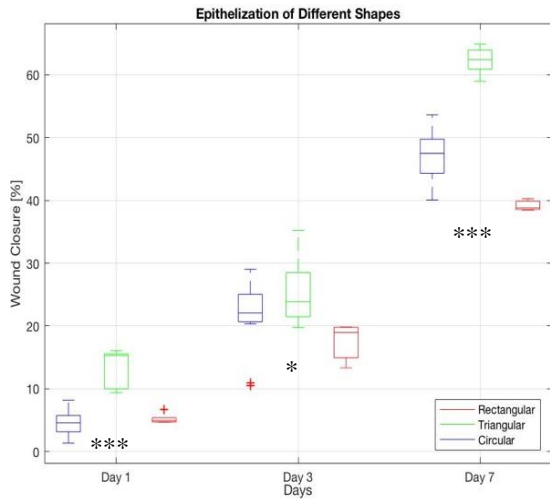


Figure 1. Epithelization of Different Shapes. The initial area is 0.5 cm². Data represent mean ± SEM from three experiments during one week (Day 1, Day 3, Day 7). N=14 circular shapes/group, N=5 rectangular shapes/group and N=5 triangular shapes/group. $p \leq 0.05$ (*), $0.001 \leq p \leq 0.01$ (**) and $p < 0.001$ (***). Rectangular and triangular shapes compared to circular shape (ANOVA).

On the other hand, in the *in silico* results, it seems that the circular shape tends to heal faster than the triangular and rectangular shapes. Moreover, unlike the *in vivo* results, triangular shape lasts more time for achieving the wound closure than the other two shapes as it can be observed in Figure 2.

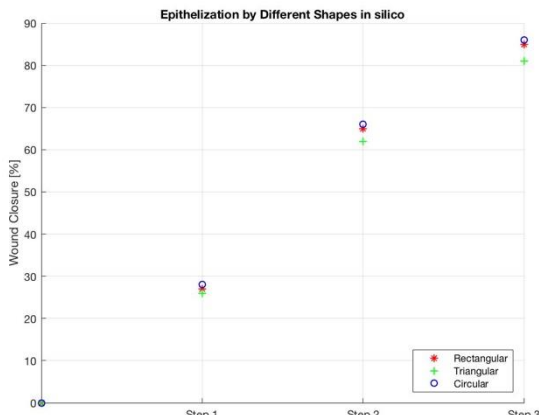


Figure 2. Epithelization by Different Shapes in silico. Data represent mean from the different simulation during three steps. Each step is equivalent to 3 days.

3.2. Epithelization of restraint stress

As it was supposed above, a restraint stress delays the wound healing process as it was also investigated in previous research [11]. By having a look in the Figure 3, even though it is not easy to recognize, but with stress, the wound needs more time for healing. As in the chapter above, the initial shape area is 0.5 cm².

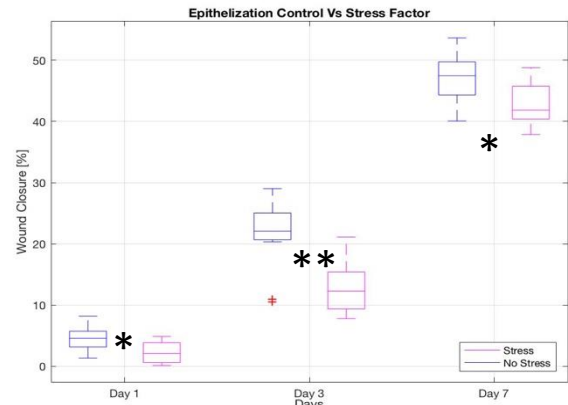


Figure 3. Epithelization Control VS Stress Factor. Data represent mean ± SEM from two experiments during one week (Day 1, Day 3, Day 7). N=14 control/group, N=8 stress/group. $p \leq 0.05$ (*), $0.001 \leq p \leq 0.01$ (**) and $p < 0.001$ (***). Stressed compared to control (ANOVA).

3.3. Evolution

The evolution of the wound can be observed in Figure 4, from the Day 0 till Day 7. The area of each wound was assumed to be 0.5 cm² at Day 0.

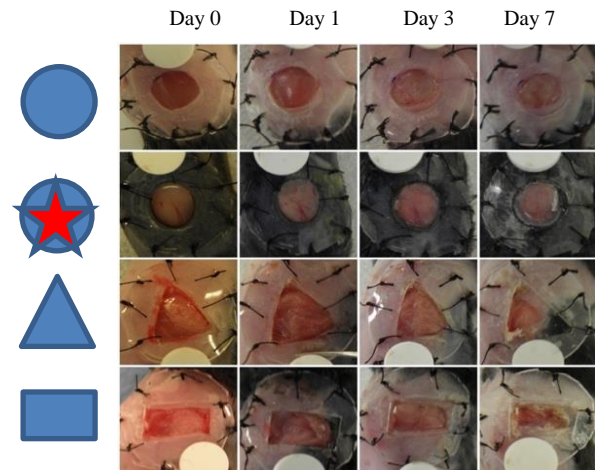


Figure 4. Evolution of the different wound shapes and stress during one week. The circular shape with stress is represented with a star mark. Each wound had an approximate area of 0.5cm². In every wound, a silicone splitting ring was placed around the wound.

3.4. Circumferentiality

Circular shape tends to convert into a more ellipse shape since it has less concave and convex edges. On the other hand, both triangular and rectangular shapes develop into a more circular shape in experimental analysis. Circumferentiality starts decreasing at the beginning of both analysis (*in vivo* and *in silico*). Once the stresses decreased at wound corners, the circumferentiality starts increasing. See Figure 5. This increase results on a homogenization o mechanical stresses at scab borders. This evolution is because edges of the triangular and rectangular wounds suffer higher mechanical stresses than in flat surfaces and those start healing easier.

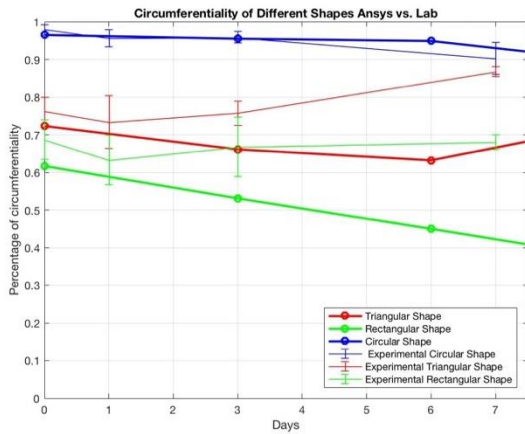


Figure 5. Circumferentiality obtained *in vivo* and *in silico*.

Experimental data represent mean \pm SEM from three experiments during one week (Day 1, Day 3, Day 7). $N=14$ circular shapes/group, $N=5$ rectangular shapes/group and $N=5$ triangular shapes/group. Dots represent steps performed during the simulations. Each step is equivalent to 3 days.

3.5. Principal maximum stress for growing scabs

Convex regions are where the highest value of stress is accumulated. As it was supposed, different shapes are going to have different wound healing behavior. Elements labeled with red, grow twice as fast as the blue elements, making converts it into a circular shape. Focusing on rectangular shape, the wound converges into a circular shape since the corners are the regions in where the highest value of stress is concentrated. The value of stresses formed in triangular and rectangular shape is two times higher than in circular shape due to the more pronounced and sharp corners in these geometries. The wound healing process simulated *in silico* can be seen in Figure 6.

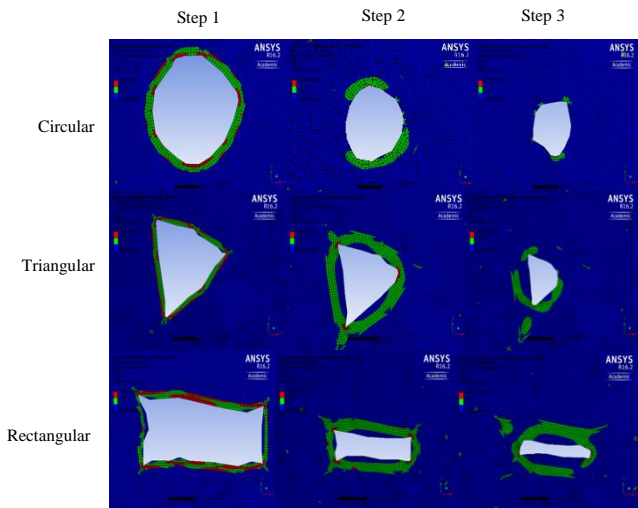


Figure 6. Maximum principal stress for three steps for circular, triangular and rectangular shape. Step 1: Scab growth 0.5 mm from the border of the wound. Step 2: Depending on the stresses that have appeared in the Step 1 around the border of the scab of 0.5 mm, the new scab will grow: 0 Pa - 0.5 mm/step, 500 Pa - 0.75 mm/step, >1000 Pa - 1 mm/step. Step 3: Depending on the stresses that have appeared in the Step 2 around the border of the scab, the new scab formed will follow the same velocity as in the Step 2.

4. Conclusion

The different shapes tend to close the wound as circular form, as the vertices accumulate stresses there. The way the stresses area is distributed in the wound has a relationship between wound healing and velocity. Also, psychological stress has a negative influence in wound healing, which might be related with the decreased production of three key cytokines (IL-6, IL-1 β , and TNF- α).

Acknowledgements

This work was made possible by grants from Ministerio de Economía y Competitividad (RTC-2015-3750-1) and Instituto de Salud Carlos III (PI13/02172, PI16/01430) to A.I., co-funded by the European Union (ERDF/ESF, “Investing in your future”). L.Y.A. received a studentship from the Department of Education, University and Research of the Basque Government. Also the authors want to thank CEIT-ik4 Technology Center for the support to develop this project.

References

- [1] The hypodermis (2015). <https://www.cliffsnotes.com/study-guides/anatomy-and-physiology/the-integumentary-system> [Access: August 2017]
- [2] Human skin anatomy, Skin problems and treatments. WebMD (2017). <http://www.webmd.com/skin-problems-and-treatments/> [Access: August 2017]
- [3] Roy R Danks, Wound closure technique. Medscape (2016). <http://emedicine.medscape.com/article/1836438-overview> [Access: August 2017]
- [4] Huang C., Holfeld J., Schaden W., Orgill D, Ogawa R. (2013). Mechanotherapy: revisiting physical therapy and recruiting mechanobiology for a new era in medicine. *Trends in Molecular Medicine*, 19(9), 555-64.
- [5] Aghar R, Ogawa R, Pietramaggiore G and Orgill DP (2011). A review of the role of mechanical forces in cutaneous wound healing, 2011. *Journal of Surgical Research*, 171, 700–708.
- [6] Padgett, D. A., Marucha, P. T., & Sheridan, J. F. (1998). Restraint stress slows cutaneous wound healing in mice. *Brain, behavior, and immunity*, 12(1), 64-73.
- [7] Horan, M. P., Quan, N., Subramanian, S. V., Strauch, A. R., Gajendrareddy, P. K., & Marucha, P. T. (2005). Impaired wound contraction and delayed myofibroblast differentiation in restraint-stressed mice. *Brain, behavior, and immunity*, 19(3), 207-216.
- [8] Ravasio, A., Cheddadi, I., Chen, T., Pereira, T., Ong, H. T., Bertocchi, C. & Trepast, X. (2015). Gap geometry dictates epithelial closure efficiency. *Nature communications*, 6, 7683.
- [9] Brugués, A., Anon, E., Conte, V., Veldhuis, J. H., Gupta, M., Colombelli, J. & Trepast, X. (2014). Forces driving epithelial wound healing. *Nature physics*, 10(9), 683-690.
- [10] Pailler-Mattei, C., Bec, S., & Zahouani, H. (2008). In vivo measurements of the elastic mechanical properties of human skin by indentation tests. *Medical engineering & physics*, 30(5), 599-606.
- [11] Stéphanie D. Tymen, Isolde G. Rojas, Xiaofeng Zhou, Zong Juan Fang, Yan Zhao, Phillip T. Marucha. (2013). Restraint stress alters neutrophil and macrophage phenotypes during wound healing. *Brain, behavior, and immunity*, 28, 207-217.

Design of an Ultra-Portable Wearable Electrocardiograph

M. Genovart Coll, Y. Montes Cebrián, P. Miribel Català, J. Colomer Farrarons

Department of Engineering, Electronics Section, University of Barcelona, Barcelona, Spain,
mgenovco8@alumnes.ub.edu, ymontes@ub.edu, peremiribelcatala@ub.edu, jcolomer@el.ub.edu

Abstract

The diagnosis of several diseases can be improved by monitoring patients for long time periods. Wearable electrocardiographs (ECG) are devices that record the heart electrical activity of patients in their daily-life environment, enabling freedom of movement. The number of leads is limited, and noise removal becomes a very important parameter as the artefacts increase with movement. This project shows an approach of the design and implementation of an ECG Front End. The implemented system aims to work as a wearable when combined with wireless technologies. This is the reason why special attention has been given to size (3.3x2.9mm²), weight, and power supply independence (coin battery, 3V). Experimental results demonstrate that the apparatus can amplify properly the signal acquired from the body, however more effort should be made to remove noise.

1. Motivation

Since 1786 the instrumentation of the Electrocardiogram is being improved and there are still reasons to continue innovating in this field. On the one side, investing in electrocardiography means investing in preventive medicine. ECG is the most important part of the initial evaluation for patients presenting cardiac complaints, specially to evaluate arrhythmias and ischemic heart disease. The goal is to detect factors that indicate the possibility to present diseases in the future or detect diseases that are already present, but at a stage where they are still curable [1]. In the other hand, empowering wearables as educational tools increases the patient safety. Technology has become a part of the day to day of the doctors, however, learning how to use it and how to interpret the results is not easy for students. The process of learning has care implications. Providing wearable devices to the potential doctors could be a way to give them independence to practice their skills [2].

2. Introduction

The ECG is one of the most common tools used for patient monitoring. It is an essential clinical device for evaluating cardiac electrical events, offering information on rate, rhythm and electrical conduction at a global and regional level [3].

The heart is the main responsibility of the blood distribution to all tissues. This is done, thanks to its electrical activity which triggers the cardiac contraction. The electrocardiograph is the graphic obtained during the continuous acquisition of the heart electrical signal, which

has different deflections (P, Q, R, S, T, U). Each of them corresponds to a specific part of the heart contraction process. This signal must be recorded through electrodes placed at specific sites of the body surface. For a portable ECG, three electrodes are needed: right arm (RA, negative), left arm (LA, positive) and right leg (RL, reference). With three electrodes, the more common pathologies can be observed [4].

3. State of the art

Electrocardiographs have been, for many years, high-volume devices connected to patients through wires and limiting their mobility. However, in the last years, the possibility to transmit data wireless and the new advancements in low power circuitry have made the market to grow towards miniaturization, portability and communication between the device and the medical staff.

Many companies in the healthcare sector are investing in manufacturing portable electrocardiographs and other wearable diagnostic devices. Advancements in this field, make it possible to early diagnose and treat various diseases.

Currently there are several devices similar to what is intended in this project. Most of them have a single lead and a similar structure: two electrodes and over it, all the electronics. The price varies between 150\$ and 750\$. They send the data via Bluetooth to a mobile/tablet and there is also the option to take the data with a microSD or an USB connection which is also used to recharge the battery. Each of them has its own app [5, 6].

4. Materials and methods

The process of the design, implementation and evaluation of the device has been done in a sequential way. First studying the acquisition of the signal, then the pre-amplification of the signal, the feedback circuit to reduce the noise coming from common mode signals. Then, the filtering stage to attenuate or remove frequency components from the input data. And finally, the post-amplifier to amplify the resulting ECG signal without noise. Each stage has been designed and simulated individually and combined with the others. Also, first prototypes have been implemented. But at the end, a prefabricated Front-End has been used to be able to construct a small device, configured and tested as a single block.

During the stages of design and simulation the software NI Multisim has been used. For the implementation of the

prototypes NI Ultiboard has been used along with the Weller WD2 Soldering Station to weld the components.

For the testing, three electrodes were attached to the skin of a volunteer. They were located, one on the right arm, another on the left arm, and the last one on the right leg. Such electrodes were connected to the device through a jack connector. The output signal was studied on the screen of the MSO-X-2002A Oscilloscope.

5. Results of the design

The design of this device is centred around the Front End AD8232. This integrated block of 4mm x 4mm in size, is specially designed to extract, amplify and filter ECG signals in the presence of noisy conditions, such as those created by motion or remote electrode placement. It works with a single supply operation between 2 and 3.5V together with a low current consumption (170µA typical).

5.1. Schematic Design

Surface mount resistors and capacitors have been used to configure the selected Front End. They occupy less space, can be placed in both parts of the PCB and have a good mechanical performance under shake and vibration conditions. The selected size of capacitors and resistors has been 0805 and 0603.

The schematic shown in Figure 1 has been conceived from the Cardiac Monitor Configuration proposed in the Front-End datasheet [7]. AD8232 includes a reference buffer to create a virtual ground between the supply voltage and the system ground. The reference voltage level is set at the REFIN pin with R10, R14 (forming a voltage divider) and C7 (for noise filtering). R10 and R14 are of high value to

limit the power consumption of the voltage divider. The virtual ground is taken from the REFOUT pin and is used for any point in the circuit that needs a signal reference: the instrumentation amplifier output, the filtering circuits or the post-amplifier.

To obtain an ECG waveform with minimal distortion, the AD8232 is configured with a 0.5 Hz two-pole high-pass filter followed by a two-pole, 40 Hz, low-pass filter. R12 controls the Q of the band-pass filter, is recommended to be 0.14 times the value of R11 to optimize the filter for a maximally flat pass band. Lower values of R12 increase the Q but also the system instability. The cutoff frequencies of the filters are calculated with the following expressions.

$$f_{c_{HP}} = \frac{10}{2\pi\sqrt{R_{11}R_{13}C_4C_6}} = 48mHz \quad (1)$$

$$f_{c_{LP}} = \frac{1}{2\pi\sqrt{R_6R_7C_1C_3}} = 41.09Hz \quad (2)$$

The gain of the instrumentation amplifier is set to 100V/V and it cannot be modified. However, there is an op amp between pins 7, 9 and 10 that acts as the post-amplifier. It is configured with a gain of 11V/V, resulting in a total system gain of 1100V/V. High value resistors had been used to not increase power consumption.

Resistors placed are of a high value to minimize additional supply current. R3, R4 and R6 are placed in series with the input and output electrodes as an input protection, limiting the current to be always less than 10µA.

The right leg drive (RLD) amplifier inverts the common-mode signal that is present at the instrumentation amplifier inputs. Then, is injected into the subject, improving the

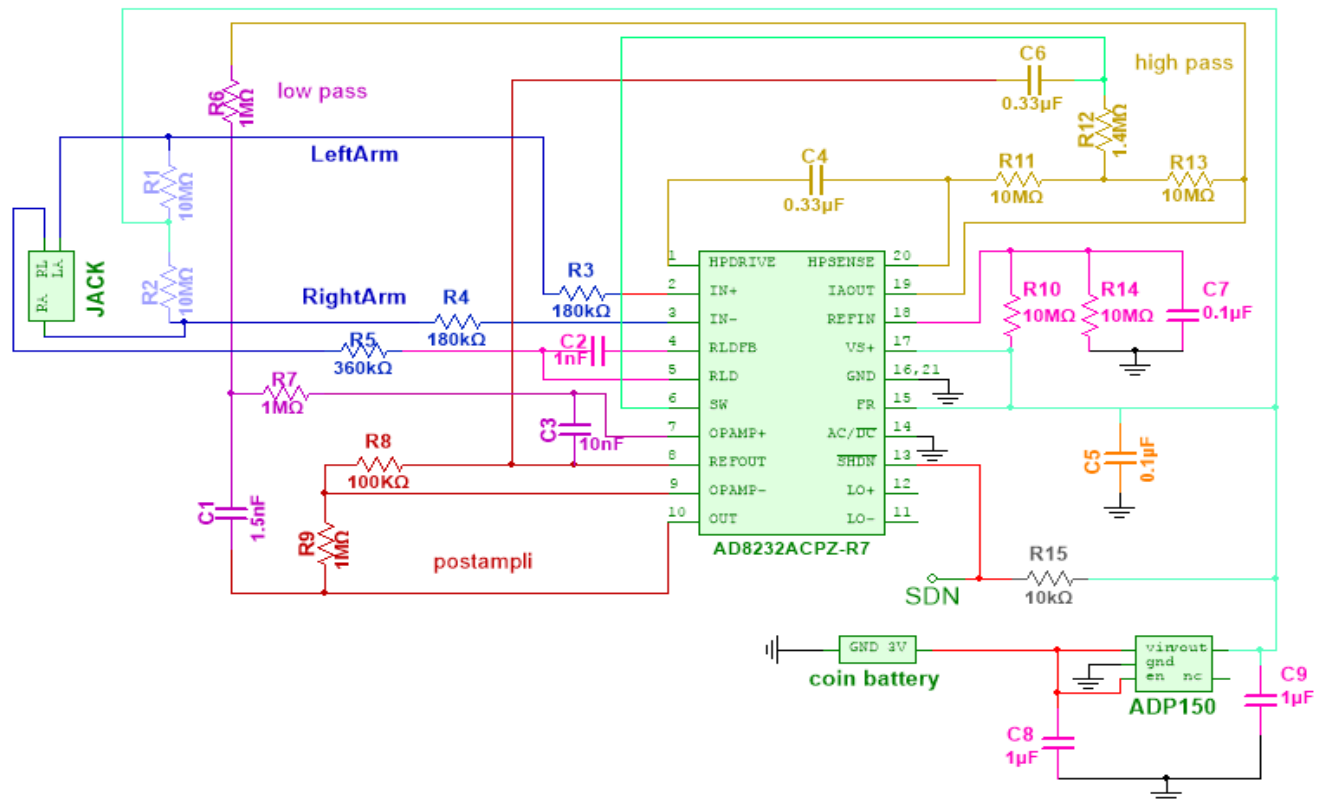


Figure 1. Designed schematic

common-mode rejection of the system [7]. Connecting a capacitor (C2) between RLD FB and RLD terminals an integrator is built. With a value of 1nF it is able to reduce the line noise in about 26dB.

Finally, the power supply is given by a 3V coin battery CR2032 type (lithium, 20 mm diameter, 3.2 mm height). On any device, supply voltage varies with load and regulators are needed to maintain a steady voltage and protect the load and the system in case of a component failure. Therefore, a linear regulator ADP150 is implemented to avoid damage to the part. It is configured in a 5-lead TSOT package. Basically, two bypass capacitors ($C8 = C9 = 1\mu\text{F}$) are connected to VIN and VOUT pins, and for an automatic start-up, EN is connected to VIN [8].

5.2. Implementation

The prototype is less than 10cm^2 in size. On the one hand, the jack box and the battery holder are placed at the bottom side of the board. On the other hand, the passive components, the integrated Front End and the linear regulator are placed at the top face. All the components are SMD type, unless the battery holder that, together with the jack connector it defines the size of the PCB created.

During layout of the board, bypass capacitors are placed as close to the relevant pins as possible. All the connections made with high impedance nodes are as short as possible to avoid introducing additional noise and errors from corrupting the signal. Traces of the power supply are the widest ones to provide low impedance paths and reduce the effects of glitches on the power supply line. The ground plane is used to improve the noise rejection of the system. Finally, there is only one pin for testing it corresponds to the out, in order to take out the signal and visualize.

To be able to attach the PCB to the t-shirt and look as it was portable, a hole has been made to the PCB by which a needle will be inserted to be able to be hooked with a pin as it can be seen at Figure 2.

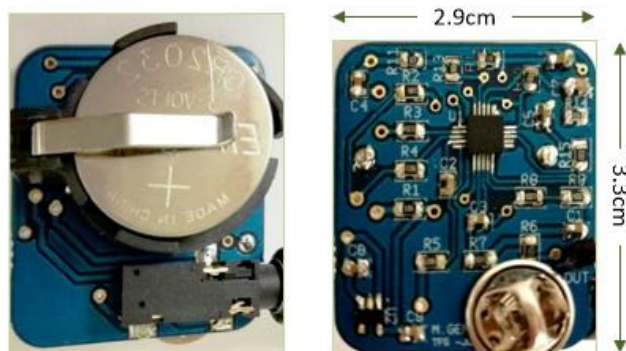


Figure 2. Prototype of the Front End

6. Testing Results and Discussion

After implementing the previous design, this small, and integrated Front-End is obtained. In Table 1 are shown the

main specifications of the final device. As it can be seen in the oscilloscope's screenshot from Figure 3, the heart signal acquired at the output has an amplitude of 3.3V. However, it has not the typical shape of an ECG. The period of the found signal is of 2.6s. That would correspond to 156 beats per minute, above the normal pulsations of a person at rest.

This is the first version of the prototype and the first results obtained it has to be enhanced and make a detailed study of what is occurring. The problem seems to come from a bad welding and also noise coming from the GND and Output pins.

Bandwidth	0.05Hz - 41Hz
Channels	RA, LA and RL as a reference
Supply voltage	Single Supply = 3V Lithium-ion cell battery
Size	3.3mm x 2.9mm
Gain	1100 V/V
Consumption	0.222mA/666 μW

Table 1. Specifications

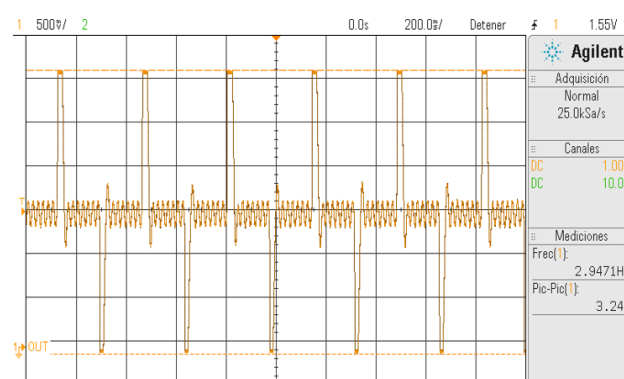


Figure 3. Output Signal

7. Conclusions and Future Works

In the present work a first approximation of a wearable ECG is shown. It consists on a low-cost device, with low consumption, battery powered and almost portable. The results point out that more effort must be made at the filtering stage. Once having improved the filter capabilities, extra functionalities should be included and total impedance achieved.

The fact is that final device is not independent, it needs to be connected to an oscilloscope to see the ECG signal. In a future project, with more time an analog to digital converter should be integrated together with a Bluetooth module to grant the autonomy of the system.

The constructed ECG does not make use of the lead-off detection circuitry included in AD8232. It could be useful to avoid recording disturbances. Also, it would be useful to include a system to detect when the electrodes have been placed in a wrong way. Reversal of the RA and LA cables is very frequent and is easily recognizable by the presence of negative P and QRS waves.

On further investigations, capacitive electrodes could be implemented. It is a technology that permits us to pick up potentials through clothing. They work with displacement currents instead of real charge currents, and the electrolytic electrode–skin interface is replaced by a dielectric film [9–11].

Finally, mention that from the integrated circuit to the discrete components the market product regulations have been followed. However, the device developed in this project is not comparable to the ones commercialized, since the highest multinational companies as Boston or MedTronics are investing in this type of products and the competitiveness is very high. For now, the main use of this ECG is for educational purposes.

Acknowledgements

I am very grateful for the support received from my tutors and those people who have somehow contributed in the accomplishment of the work. Finally, I would like to thank both the faculty of Physics and Medicine from the University of Barcelona, and the organizers of CASEIB 2017 for giving me the opportunity to present my final degree project at such a prestigious congress.

References

- [1] Fye WB. A history of the origin, evolution, and impact of electrocardiography. *Am. J. Cardiol.*, vol 73, no 13, 1994, pp 937–49.
- [2] Vallurupalli S, Paydak H, Agarwal SK, Agrawal M., Assad-Kottner C. Wearable technology to improve education and patient outcomes in a cardiology fellowship program - A feasibility study. *Health Technol.* vol 3, 2013, pp 267–270.
- [3] Klabunde RE. Cardiac electrophysiology: normal and ischemic ionic currents and the ECG. *Adv. Physiol. Educ.*, vol 41, no 1, 2017.
- [4] Wesley K. Huszar's ECG and 12-Lead Interpretation. 5th edition. Elsevier Health Sciences, 2016 (ISBN: 9780323355759).
- [5] Engel JM, Mehta V, Fogoros R, Chavan A. Study of arrhythmia prevalence in NUVANT Mobile Cardiac Telemetry system patients. Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 2012, pp 2440–2443.
- [6] Perez L. New generation dynamic, wireless and remote cardiac monitorization platform: A feasibility study. *Int. J. Cardiol.*, vol 144, 2010, pp 1–2.
- [7] Single-Lead, Heart Rate Monitor Front End, AD8232. Analog Devices, Norwood, 2017.
- [8] Ultralow Noise, 150 mA CMOS Linear Regulator. ADP150. Analog Devices, Norwood, 2015.
- [9] Park C, Chou PH, Bai Y, Matthews R, Hibbs A. An ultra-wearable, wireless, low power ECG monitoring system. IEEE 2006 Biomedical Circuits and Systems Conference Healthcare Technology, BioCAS, 2006, pp 241–244.
- [10] Spinelli E, Haberman M. Insulating electrodes: a review on biopotential front ends for dielectric skin–electrode interfaces. *Physiol. Meas.*, vol 31, no 10, 2010, pp. S183–S198.
- [11] Matthews R, McDonald NJ, Hervieux P, Turner PJ, Steindorf MA. A Wearable Physiological Sensor Suite for Unobtrusive Monitoring of Physiological and Cognitive State. 29th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 2007, pp 5276–5281.
- [12] De Oliveira IH, Cene VH, Balbinot A. Portable electrocardiograph through Android application. Proceedings of the Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBS, 2015, pp 6780–6783.

Biofónica

Jueves, 30 de Noviembre

Development and implementation of a portable low-cost vein finder

A. Madrid García¹, P. R. Horche¹

¹ Departamento de Tecnología Fotónica y Bioingeniería, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España, alfredo.madrid.garcia@alumnos.upm.es, p.rhorche@upm.es

Summary

Nowadays, solutions oriented to non-invasive veins visualization by physicians are not numerous neither cheap. For that reason, the main purpose of this project is to design a portable and low-cost biophotonic device, which allows veins visualization and facilitates venepuncture and intravenous line procedures, reducing the method invasiveness. 3D printing process will be essential to replicate current available commercial solutions like Veinlite® reducing significantly the cost of the device making it more affordable.

1. Motivation

According to some studies, almost eighty per cent of the hospitalized patients receive a peripheral intravenous (I.V) cannulation. [1] In fact, although it is considered as a routine procedure (also a procedure indispensable for human health), their related complications are often unknown and undervalued. A recent published study in the British Journal of Anaesthesia showed the ratio of difficult venepuncture cases in different populations group. The percentage of those difficult cases is shown in figure 1.

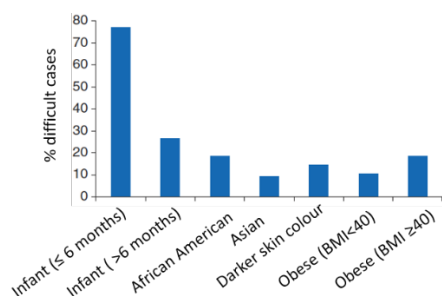


Figure 1. Percentage of cannulation difficult cases [2]

Associated complications, derived from unsuccessful cannulation procedures include bacterial infection, extravasation, phlebitis, thrombosis, embolism and nerve damage. These ones, often have attached other complications such as economical indemnities.

The different populations groups that can take advantage of a vein visualization device include the following ones:

- Obese patients: The adipose tissue surrounding vessels often complicates cannulation procedures.
- Elderly people: The loss of muscle tone and the potential risk of damaging a vessel are some issues to deal with when cannulating elderly people.
- Patients with blood flow reduction (hypovolemia) in which vessels are not visible.

- Chronicle patients, patients with multiple prior hospitalizations, patients under a chemotherapy treatment, patients with oedema, drug abusers, undernourished patients, burned patients or those ones with vascular diseases can also take advantage of a vein seeker device.

Furthermore, there are some situations in which choosing the suitable vein is even more important than doing the cannulation or venepuncture process accurately: Avoiding sensitive places derived from venous fibrosis, local infections or inflammations, fistulae or vascular grafts are some examples of that situations.

For all of the previous reasons the use of a vein seeker can facilitate blood extraction and cannulation procedures.

2. Light-tissue interaction

The different technological approaches, later described, take advantage of mainly three optical phenomena: absorption, scattering and reflection.

- Absorption: process by which electromagnetic radiation is captured by matter producing an intensity attenuation. In the epidermis layer, lipids, melanin and hemoglobin are the main chromophores (absorbing molecules). Skin blood chromophores are confined on the vessels of the dermis and the main absorption peaks are located as it is shown figure 2:

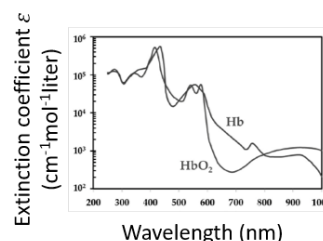


Figure 2: Hemoglobin absorption spectra [3]

For oxyhemoglobin (an oxygen molecule is bounded to hemoglobin) the absorption peaks appear at 418, 542, 577 and 925 nm. For desoxyhemoglobin (there is not oxygen molecule) the peaks are located at 550, 758 and 910 nm.

- Scattering: process in which the light path is deviated from a straight trajectory, once it encounters objects with a refractive index distinct from its surroundings. Depending on the incident light energy balance, there can be different scattering process. Mie Regime (a kind of elastic scattering) will arise in this application

due to the object size is comparable to the incident light wavelength.

- Reflection: process in which a light ray encounters a surface that split two different dielectric media and is not able to cross such interface. It is estimated that about the 4% - 7% of the light is reflected as a consequence of the difference of refractive index between air and skin. The remaining light will suffer absorption and scattering phenomena.

The great majority of biophotonic applications are between an optical window which goes from 600 nm to 1300 nm, called *therapeutic window for biophotonics*. Light is not strongly absorbed by tissues; therefore, the *light transport* is mainly dominated by scattering. The lower absorption in the optical window will allow us to develop the *vein finder*, permitting us to deepen considerable under skin.

Parameters such as *effective attenuation coefficient*, *effective penetration depth* and *total extinction coefficient* in which the *absorption* and *scattering coefficients* are involved, will determine the success of the application.

Most of the tissues are considered as *turbid* tissues. This means basically two facts. The first one is that there exist interactions, which cannot be neglected, among light that have been scattered from one scatterer to the light from other scatterers existing in the media. The second fact is related to the heterogeneous structures with different optical properties that formed the tissues. Therefore, it is said that the light inside the tissue is *diffuse* or *cloudy*. Because of the difficulties of studying this kind of problems (light propagation along turbid media), some mathematical models are developed to study light propagation. The *radiative or radiation transport theory (RTT)* is useful to describe light propagation when multiple scattering phenomena are presented. The main purpose of RTT is to track the transport of light energy through a medium, incorporating elements of classical and quantum descriptions of light. RTT theory is based on tracking photon changes (energy flow) in an *infinitesimal volume* which will be called dV , within differential *solid angle* $d\Omega$ around \hat{s} direction. Changes in energy flow can be caused by incoming, outgoing, absorbed and emitted photons. Figure 3 illustrates the energy flow.

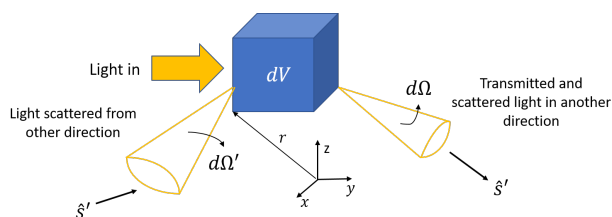


Figure 3. Light propagation schema in RTT theory.

Finally, the response to light by an irradiated tissue depends on certain parameters such as: the wavelength of the incident light which will determine the penetration of light, the optical power emitted by the light source, the irradiation time, the pulse duration and the number of pulses, the light polarization state, and the light exposure rate are some of those parameters.

3. State of the art

Nowadays, there are different approaches by which a physician can see in a non-invasive way the patient's vessels. A summary of all of them is presented in figure 4.

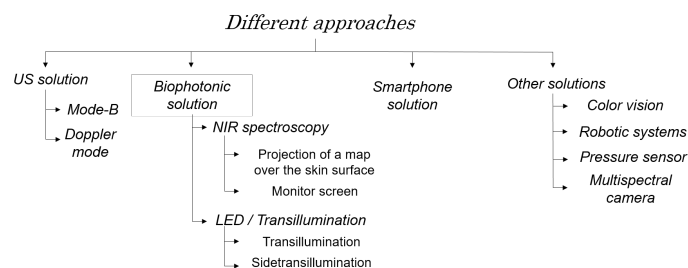


Figure 4. Different non-invasive vein visualization approaches

Ultrasound (US) biomedical imaging systems have been used for assisting cannulation from a long time ago. The non-invasive, the real-time acquisition and the portable features have done from US one of the most common ways for I.V. procedure. [Site-Rite Prevue®](#) Ultrasound System developed by Bard Access Systems, is an example of US systems already used. For their part, inside biophotonic based solutions there are two possible options:

- Solutions that take advantage of *NIR spectroscopy principles*: These solutions, commonly project, in real time, over the skin surface a map of the blood vasculature employing a visible wavelength. The projections are achieved by previously radiating the skin surface with NIR light and quantifying the amount of light absorbed by the blood (haemoglobin) and reflected by surrounding tissues. The device will capture the information, process the data and finally project over the skin surface the veins distribution. [AccuVein®](#), [VeinViewer®](#) and [IV-eye®](#), are the most well-known devices which takes advantage of this principle.
- Solutions that take advantage of visible light together with skin optics properties, also known as *transillumination* solutions: They are based on the use of *LED technology*. Skin surface is irradiated with the appropriately visible wavelength/s allowing directly the vein visualization by differences in tissues properties. These differences are absorption and reflectance. Skin reflects short-wavelength (blue and green) whereas absorbs long-wavelength (orange and red), therefore, the emitting wavelength is consciously chosen to maximize the absorbance by the vein (which has deoxygenated hemoglobin) and the reflection by surrounding tissues. As it has been presented in section 2, there are many chromophores in the skin. The absorption differences between skin chromophores and blood chromophores will allow us to see the veins. [Venoscope®](#), [Veinlite®](#), [Wee-Sight Transilluminator®](#) and [Illumivein®](#) solutions follow this approach. An important consideration in this last approach is that the intensity of the light reflected is usually higher than the light transmitted to the vessels. Therefore, difficulties of superficial vein visualization arise, given that too powerful light and shadows pattern will emerge. To overcome this issue, *side-*

transillumination method can be used instead of transillumination. This method, uniformly illuminates a small region of the skin to reduce the shadows and allowing light penetration up to 6 mm in depth.

Smartphones have also been used in the vein visualization task by acquiring reflectance information thanks to a RGB conventional camera and using multispectral Wiener estimation [4].

Finally, other approaches not fully developed are been under research like robotic systems or pressure sensors to facilitate blood extraction.

3.1. Scientific evidence of the potential benefits of using a vein finder

There exist several studies which affirm that the use of a vein finder (independently of the technological approach employed) can help the physician in procedures like cannulation, blood extraction, and I.V. In fact, figure 5 proves a higher vein visualization rate when using a vein finder device.

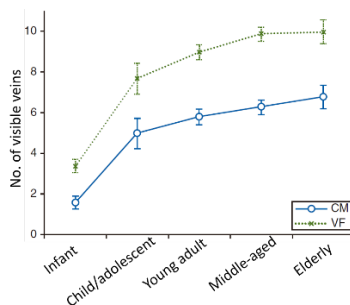


Figure 5. Number of visible veins when using the Conventional Method (CM) and a Vein Finder device (VF)

For instance, in [5], researchers analyzed the reliability of transillumination devices (Veinlite®) in pediatric emergency department. The main conclusion of this study was that I.V. procedure accuracy was improved in the first attempt and within two attempts, therefore, VF method was declared better than CM. An interesting result extracted from [6], one of the first which reviewed the use of NIR spectroscopy solutions, suggested that not only veins could be highlighted with VeinViewer®, but also some of them invisible to the naked eye and too shallow for ultrasound detection could be visualized.

4. Design and methods

A vein finder device is designed following the biophotonic approach. LED technology in a side-transillumination solution will be used, imitating Veinlite® device which reported an accuracy of 85% compared to the 74% with the standard method. Some of the reasons for choosing this approach are: the light source (LED) is very cheap, the development is easier than other solutions (like NIR) and also it offers a clearly advantage when mobility and availability are the key points for physicians.

Different designs with different shapes, wavelengths, number of LEDs, distance between LEDs and size of LEDs were developed to assess which design was the more suitable one for vein visualization. Hereafter the final design development and implementation is explained.

4.1. Design of the case

3D printing technology was employed to develop the case of the vein finder. *Solid Edge: Siemens PLM software (ST9)* and *3D Builder* were the chosen software to design the pieces. A screenshot of the design process and the final aspect can be seen in figure 6.

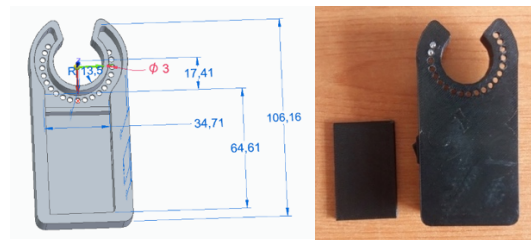


Figure 6. Final implementation design

As it is shown in the previous figure, the vein finder follows a *c-shape*, has a battery hole which is connected to a rocker and an homogeneous LEDs distribution. 3D printing process was made thanks to Cura software in a period of time of five hours. The device was printed with a *Bq Witbox 2* printer with polylactic acid (PLA), a resolution of 150 microns per layer applying the fused deposited modelling technique (FDM). After printing the prototype, some manual corrections were made to facilitate the assembly process such as opening some LEDs holes. The final dimensions are: 106.16 x 51.94 x 22.0 mm. These measures were chosen thinking of optimizing as much as possible the available space.

4.2. Light source

LED technology is characterized for being cost-effective, simple, with low energy consumption, high lifetime, small size, reduced heat emission, and, also, almost every visible spectrum wavelengths are available. A particularity of the LEDs employed in the vein viewer device is that their luminous intensity is greater than normal LEDs, those LEDs are called Ultra / Super Bright LEDs (the ones used were between 6000-8000 mcd), see figure 7. For this project, twenty Super Bright LEDs (3 mm) with two different wavelengths range were used. The red ones (650-670 nm) which have a higher penetration power and the orange ones (600-610 nm) with a better contrast.

Studies related to the suitable luminous intensity (mcd), and the aperture angle were also carried out.

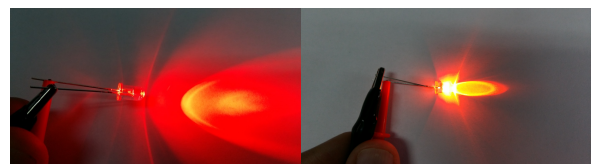


Figure 7. Super-bright red and orange LEDs

4.3. Power supply

A 2.4 V and 2500mAh accumulator was bought as a source of energy. According to the datasheet, the recommended operating voltage value for each LED is 2.1 V. Therefore, the equivalent resistance to avoid LEDs failure was estimated as it is shown in figure 8.

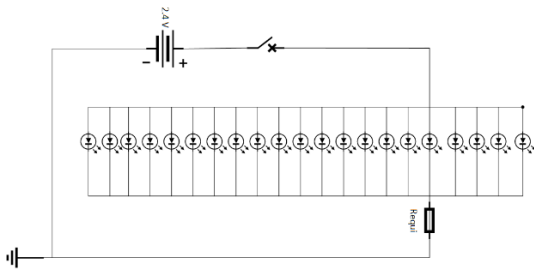


Figure 8. Super-bright red LEDs power supply

Finally, we assessed that the electrical circuit fulfilled the *Maximum continuous discharge current* limitation.

4.4. Costs

Table 1 shows the total cost for the final implementation. These costs are very dependent on the 3D printing process; however, we have to consider that in an industrial environment, 3D printing might not be the employed technique. Instead, molds could be used, reducing even more the costs.

Total costs			
3D printing	13.35€	Rocker	0.96€
LEDs	4.47€	Battery	4.65€
Final material cost: 23.58€			

Table 1. Cost structure

Other material costs like wires and resistances are negligible. On the other hand, an estimation of the average time to build a prototype was done. This time is two hours and a half. Furthermore, 3D printing time is about five hours. Both times should be taken into account to estimate a final cost for each prototype, which in all cases should be lower than 100€.

Costs for other transillumination commercial solutions like Veinlite® are between a range of 239\$-629\$.

5. Results

Experimental results were carried out under different populations groups and under variable light conditions. Also, the anatomical structures evaluated were forearms (in which blood extraction process is done), the back of the hand (cannulation process) and the calf muscle (well irrigated).

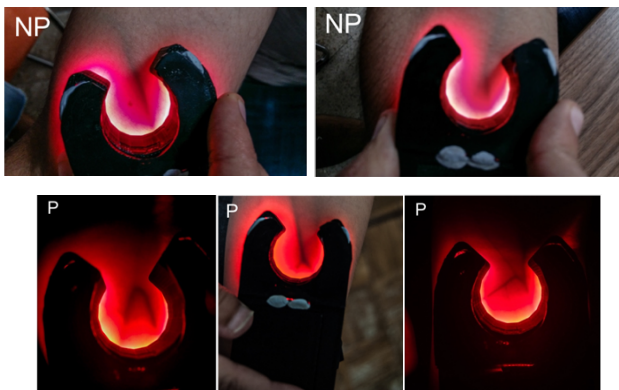


Figure 9. Finding veins with the developed design. From up to down. Forearm of an Aboriginal individual in light conditions. Forearm of a Mediterranean individual in half-light conditions. Calf muscle of a Mediterranean individual in darkness conditions

As we can appreciate in all the pictures a vein enhancement is achieve, which can help and improve the physician success rate.

6. Conclusions

We have designed and developed successfully a low-cost vein finder [7]. The final implementation of the device has been possible only after an exhaustive analysis in which we studied different variables like the shape, the power supply and the light source distribution. Therefore, the non-invasive vein visualization is enhanced, in some situations with our vein finder. Furthermore, we have found that the veins visualization does not lean primarily on the skin colour but on the amount of surrounding ‘fatty tissue’. Also, we concluded that red light is more useful to see deeper vessels whereas, with orange illumination the contrast seems to be better. On the other hand, in well-lit environments the finding task becomes more complicated. Other applications combined with image processing could be considered.

References

- [1] Rivera, A. M., Strauss, K. W., van Zundert, A. A. J., & Mortier, E. P. (2006). Matching the peripheral intravenous catheter to the individual patient. *Acta Anæsthesiologica Belgica*, 58(1), 19.
- [2] Chiao, F. B., Resta-Flarer, F., Lesser, J., Ng, J., Ganz, A., Pino-Luey, D., ... & Witek, B. (2013). Vein visualization: patient characteristic factors and efficacy of a new infrared vein finder technology. *British journal of anaesthesia*, aet003.
- [3] Tsia, K. (Ed.). (2016). *Understanding Biophotonics: Fundamentals, Advances, and Applications*. CRC Press.
- [4] Song, J. H., Kim, C., & Yoo, Y. (2015). Vein visualization using a smart phone with multispectral Wiener estimation for point-of-care applications. *IEEE journal of biomedical and health informatics*, 19(2), 773-778
- [5] Katsogridakis, Y. L., Seshadri, R., Sullivan, C., & Waltzman, M. L. (2008). Veinlite transillumination in the pediatric emergency department: a therapeutic interventional trial. *Pediatric emergency care*, 24(2), 83-88.
- [6] Miyake, R. K., Zeman, H. D., Duarte, F. H., Kikuchi, R., Ramacciotti, E., Lovhoiden, G., & Vrancken, C. (2006). Vein imaging: a new method of near infrared imaging, where a processed image is projected onto the skin for the enhancement of vein treatment. *Dermatologic surgery*, 32(8), 1031-1038.
- [7] Madrid, G. A., P. R. Horche. (2017). Development and implementation of a portable low-cost vein finder. *Proyecto final de Máster*. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid.

Detección de *Brettanomyces bruxellensis* mediante medidas de impedancia con sensores basados en microelectrodos interdigitados

I. Tubia Antillera¹, J. Paredes Puento², E. Pérez Lorenzo¹, S. Arana Alonso¹

¹ CEIT-ik4 y Tecnun (Universidad de Navarra), San Sebastián, España, {itubia, eperez, sarana}@ceit.es

² Tecnun (Universidad de Navarra), San Sebastián, España, jparedes@tecnun.es

Resumen

Brettanomyces es considerada una de las levaduras contaminantes más relevantes en la producción de bebidas alcohólicas, especialmente en el vino y la sidra. Durante la fase de fermentación y almacenamiento, estas levaduras pueden causar cambios químicos en las características del producto, generando importantes pérdidas económicas. Este trabajo presenta un método de monitorización basado en impedancia con sensores de microelectrodos interdigitados. Para ello, se han testado diferentes condiciones de los medios de cultivos dentro de biorreactores (en estático y en agitación) para evaluar el crecimiento de las *Brettanomyces*. Los resultados muestran una respuesta más rápida y un aumento de la variación relativa de la impedancia bajo la condición de agitación debido a la formación de biocapas sobre la superficie de los sensores.

1. Introducción

La elaboración del vino y la sidra son procesos complejos, que implican el control de muchos parámetros a lo largo de las distintas etapas de la producción. Además de la calidad original de la materia prima utilizada en el proceso, es fundamental el control de las condiciones físico-químicas y microbiológicas para lograr la mejor calidad del producto final. Durante el período de almacenamiento o envejecimiento en bodega, el producto puede verse alterado por la aparición de levaduras contaminantes, generando cambios en las propiedades organolépticas de los productos. Uno de los principales problemas de este fenómeno, es el desconocimiento de los mecanismos por los cuales estas levaduras comienzan su actividad. Por lo tanto, todavía no es posible controlar su aparición en el interior de las bodegas y los depósitos.

Una de las principales levaduras contaminantes en el vino y la sidra es *Brettanomyces*, capaz de generar cambios en el aroma y en el sabor que muchos expertos los describen como corral, ahumado, cheso o incluso sudor de caballo [1]. Este cambio tan característico es causado principalmente por la generación de fenoles volátiles, como 4-etilfenol y 4-etilguaicol. Las levaduras transforman los ácidos hidroxixinámicos, constituyentes naturales de la uva y la manzana, en estos fenoles volátiles durante el período de almacenamiento y envejecimiento, lo que conlleva a pérdidas económicas significativas para los productores. Además, son capaces de sobrevivir durante largos períodos de tiempo y soportar los procesos de saneamiento aplicados regularmente en las bodegas. Esto

se debe a su capacidad para adherirse y formar biocapas (comunidades microbianas de células adheridas a la superficie incrustadas en una matriz polimérica extracelular).

A día de hoy, para la detección de estas levaduras se emplean tanto métodos directos como indirectos. Entre los métodos directos, se encuentran las técnicas basadas en la identificación microbiológica como el conteo en placa [2]. Son altamente empleadas por su bajo coste, pero a su vez, posee numerosas desventajas como los largos períodos de incubación, los falsos positivos o la contaminación de las placas. Por otra parte, se encuentran las técnicas basadas en análisis molecular, que cuenta con numerosas ventajas frente a las técnicas anteriores. Su principal inconveniente es su elevado coste, lo que hace que estas técnicas sean de difícil acceso para pequeñas bodegas. Las técnicas indirectas se basan en el análisis y cuantificación de los productos metabólicos producidos empleando cromatografía de gases. Se trata de una técnica tardía, ya que las alteraciones suceden una vez que la concentración de levaduras ya es demasiado alta.

Como resultado de estas dificultades para su detección, la mayoría de las bodegas se han esforzado en implementar métodos profilácticos en todas sus bodegas de manera generalizada. El tratamiento con sulfitos es el más utilizado para evitar la proliferación de las levaduras.

En los últimos años, los métodos basados en la espectroscopía de impedancia se han utilizado como una herramienta eficaz para la detección *in situ* de microorganismos [3]. Esta técnica se basa en la medición de cambios impedimétricos del medio causados por la presencia de microorganismos debido al crecimiento sobre la superficie del sensor (formando biocapas), o a cambios químicos del medio causados por su actividad metabólica.

El objetivo de este trabajo consiste en proporcionar evidencias experimentales de la aplicación de la impedancia para la detección de *Brettanomyces* bajo diferentes condiciones (estático y agitación) en cultivos selectivos. Para ello, se han utilizado sensores basados en IDE, ya que ofrecen una respuesta precisa en un espacio limitado [4]. Además, se ha realizado un estudio de circuitos equivalentes que ha permitido evaluar todos los efectos que afectan a las medidas de impedancia de forma aislada.

2. Materiales y métodos

2.1. Sustancias químicas y reactivos

Los productos químicos y reactivos empleados han sido: etanol 99,5% (ref: 161086.1211, Panreac), caldo de extracto de malta No. 1 (ref: 02-111-500, Scharlab), cristal violeta (ref: HT90132, Sigma-Aldrich), agua destilada (Mili-Q, Millipore) y cicloheximida 95 % (Ref: 357420010, Acros).

El medio de cultivo se ha preparado para el crecimiento selectivo de *Brettanomyces* y simulando las condiciones de barrica. Se ha empleado caldo de extracto de malta enriquecido con cicloheximida (20 mg/l) y etanol (6 %).

2.2. Levadura y protocolo de cultivo

La levadura empleada es *Brettanomyces bruxellensis*, proporcionada por Guserbiot S.L. (Vitoria-Gasteiz, España). Para el crecimiento y la monitorización de esta levadura, se han empleado biorreactores de 1 L a 18 °C, replicando las condiciones de envejecimiento del vino [5]. La infección se ha realizado con 10^2 UFC/mL, de acuerdo con el nivel mínimo de *Brettanomyces* que podría causar alteraciones en la calidad de los productos. La población crítica para producir niveles detectables de los compuestos contaminantes es de 10^3 UFC/ml [6].

2.3. Diseño del biosensor y setup experimental

El biosensor se ha diseñado y fabricado mediante técnicas de microtecnología en sala limpia. El sensor contiene un depósito de película delgada de oro de 250 nm de espesor mediante pulverización catódica sobre obleas de silicio de 3". La anchura de los sensores es de 7,5 mm, la longitud es de 14 mm y la superficie sensible es un círculo de 6 mm de diámetro. Los microelectrodos tienen una anchura de 20 μ m y una separación de 30 μ m. Una vez fabricados, los sensores se han limpiado con acetona y etanol consecutivamente en un baño ultrasónico durante 5 minutos. A continuación, se han soldado las conexiones y se ha aplicado una resina epoxi (ARALDIT Ceys) para aislar las conexiones eléctricas.



Figura 1. Setup y biosensor empleados durante los ensayos.

Se han empleado cuatro biorreactores cada uno equipado con ocho biosensores para los experimentos: dos controles y dos infectados con *Brettanomyces* (en estático y en agitación).

2.4. Medidas impedimétricas

Para la realización de las medidas, se ha empleado un analizador de impedancia Solartron 1260 (Solartron Analytical) conectado a un sistema multiplexor de 24

canales independientes. Cada biosensor ha realizado una medida cada hora durante 16 días, con un barrido en frecuencia (10 Hz - 1 MHz) aplicándole 50 mV (DC).

2.5. Análisis de microscopía

Para evaluar la formación de biocapas sobre la superficie del sensor se ha empleado microscopía. Para ello, se ha retirado un sensor cada 5 días de cada biorreactor. Las levaduras se han fijado al biosensor con metanol y han sido teñidas con cristal violeta durante 5 minutos. Se ha empleado un microscopio óptico Zeiss Observer D1.

2.6. Circuitos equivalentes

Las mediciones impedimétricas se han evaluado mediante circuitos equivalentes, donde cada efecto biológico se representa con distintos componentes eléctricos [7]. Por lo tanto, se han podido aislar efectos de forma individual, como la generación de biocapa, las variaciones químicas e iónicas, el metabolismo, etc.

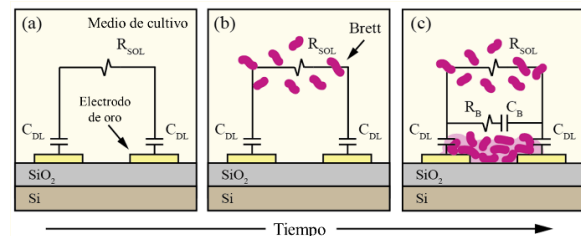


Figura 2. Circuito equivalente propuesto para el estudio del crecimiento de *Brettanomyces* sobre el sensor.

C_{DL} es la capacitancia de doble capa que representa la interacción de los iones del medio con los electrodos en la interfaz; R_{SOL} es la resistencia del medio (concentración iónica y composición química del medio, afectada por la actividad metabólica de las levaduras). C_B y R_B son la capacitancia y la resistencia, respectivamente, asociadas a la formación de biocapa unida a la superficie del biosensor. La expresión matemática del modelo de la impedancia es:

$$Z = \frac{2}{C_{DL}\omega j} + \frac{R_{SOL}(R_B + \frac{1}{C_B\omega j})}{R_{SOL} + R_B + \frac{1}{C_B\omega j}}$$

El modelo se ha evaluado en el dominio de la frecuencia realizando un *fitting* sobre los valores experimentales. Para ello, se ha empleado MATLAB R2014b con un método de mínimos cuadrados no lineal con el algoritmo *Trust-Region* y una robustez *Bisquare* (R^2 ha sido 0.999).

3. Resultados y discusión

3.1. Monitorización del crecimiento

El crecimiento de *Brettanomyces bruxellensis* provoca un cambio en la impedancia de los medios proporcional al aumento de levaduras. La Figura 3-a y 3-b muestran la evolución de la concentración de las levaduras y de la magnitud de la impedancia a 10 Hz (mayores cambios de impedancia) para los cuatro biorreactores: dos controles y dos infectados, uno en estático y otro en agitación. Las curvas muestran los valores medios de la impedancia relativa de los sensores, en los que se incluyen las barras de desviación estándar sobre cada curva.

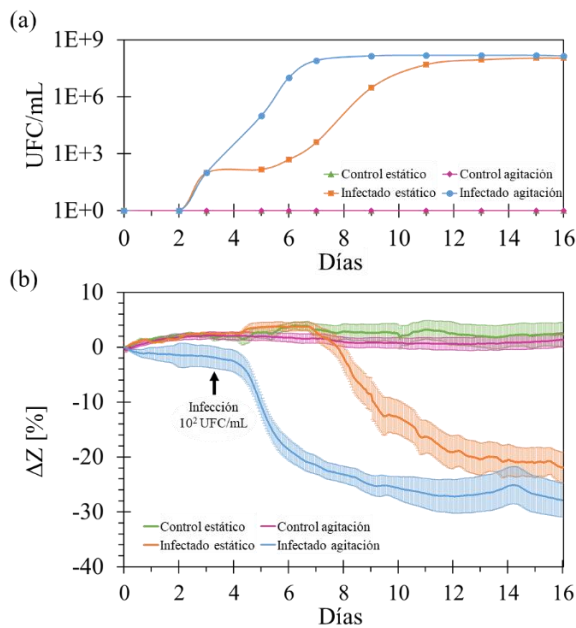


Figura 3. (a) UFC/ml de *Brettanomyces* a lo largo de los experimentos. (b) Impedancia relativa de los distintos biorreactores.

Para ambos controles, las concentraciones han permanecido constantes a cero a lo largo de los 16 días de ensayo (**Figura 3-a**). En cambio, los reactores infectados han sufrido un aumento de la concentración de células durante los experimentos. La cinética de crecimiento ha sido diferente para cada condición: la condición de agitación ha permitido una rápida proliferación y un metabolismo acelerado debido a la difusión de nutrientes de manera homogénea y a la oxigenación de los medios. En estas condiciones, la concentración máxima (UFC/mL) se muestra en el octavo día, con un crecimiento exponencial tras de infectar el bioreactor. Por el contrario, bajo las condiciones estáticas, el crecimiento de las levaduras es más lento, llegando a una concentración máxima en el día 11. Para ambas condiciones, después del crecimiento exponencial, *Brettanomyces* ha llegado a una fase estacionaria, manteniendo su concentración en torno a 10^8 UFC/mL (**Figura 3-a**).

En las medidas de impedancia, los controles se han mantenido constantes a lo largo del experimento (**Figura 3-b**). En cambio, los biorreactores infectados han mostrado variaciones notorias debido al desarrollo de las levaduras (actividad metabólica y formación de biocapa). La curva correspondiente a la condición de agitación presenta un tiempo de detección rápido, 1 día después de la infección (en comparación con la condición estática que cambió 3 días después). Esto se debe a que la condición de agitación promueve la unión celular sobre la superficie de los sensores y la formación de biocapas [8]. Por el contrario, en condiciones estáticas, las levaduras tienden a depositarse en el fondo del reactor. En este caso, la difusión de nutrientes es limitada, y, por lo tanto, los cambios en los medios son más lentos, afectando a la cinética de crecimiento y al metabolismo [9]. Bajo condiciones de agitación han sido necesarios 9 días tras la infección para alcanzar la variación máxima de la impedancia (30 %);

mientras que, para las condiciones en estático, el valor ha sido de 22 % después de 12 días (**Figura 3-b**).

3.2. Análisis de microscopía

La **Figura 4** muestra fotografías de los sensores extraídos de los biorreactores durante los ensayos. Se puede observar un aumento en el número de levaduras adheridas a la superficie del sensor, generando biocapas según van pasando los días. En el caso de agitación, la biocapa producida sobre la superficie de los sensores ha sido significativamente mayor, lo que confirma la cinética más rápida de la formación de biocapa. Además, se ha realizado una cuantificación de *Brettanomyces* unidas al biosensor al final de los experimentos. En la condición estática, la concentración ha sido de $5,4 \cdot 10^1$ CFU/cm². Mientras que, en agitación, ha sido mayor, alcanzando una concentración de $8,8 \cdot 10^5$ UFC/cm².

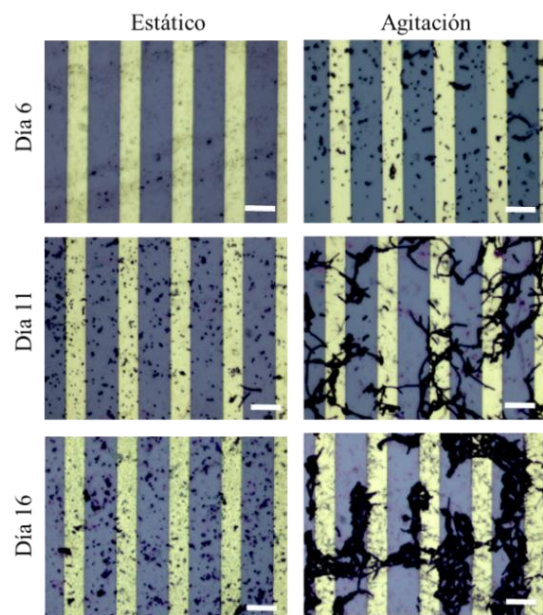


Figura 4. Fotografías de los sensores en distintas condiciones a lo largo de los ensayos (barra de escala: 30 μ m).

3.3. Espectroscopía de impedancia

La frecuencia de la señal aplicada a los electrodos es uno de los parámetros más importantes que afecta a la respuesta de los biosensores. La **Figura 5** presenta una comparación de la variación relativa máxima de la magnitud de impedancia (día 12 para agitación y día 15 para estático) a diferentes frecuencias (de 10 Hz a 1 MHz).

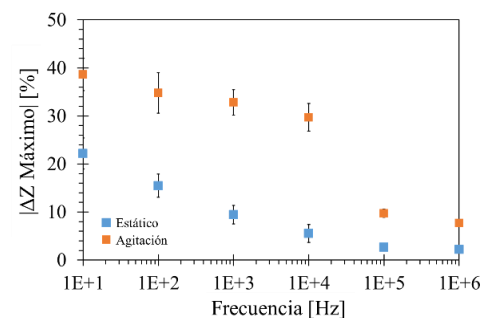


Figura 5. Variación de impedancia relativa máxima para diferentes frecuencias en condiciones en estático y agitación.

En ambas condiciones el rango de frecuencia más bajo (10 Hz) ha proporcionado una mayor sensibilidad para la detección de *Brettanomyces*, disminuyendo a medida que aumenta la frecuencia [10]. Además, la condición de agitación es mayor para todas las frecuencias mostradas.

3.4. Análisis de circuitos equivalentes

En el modelo eléctrico, se han aislado comportamientos específicos con los datos experimentales. La **Figura 6-a** y **6-b** muestran los resultados del ajuste del modelo óptimo sobre el rango de frecuencia para ambas condiciones experimentales. En ambos casos, el modelo propuesto presenta un buen ajuste. Las **Figura 6-c** y **6-d** representan la evolución de los componentes eléctricos equivalentes del modelo (R_{SOL} , R_B , C_B y C_{DL}) calculados a partir de los datos experimentales en estático y agitación. El comportamiento de los componentes coincide con los gráficos de la **Figura 3**.

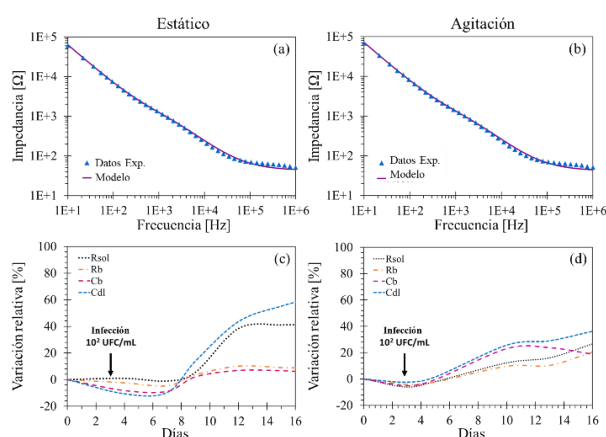


Figura 6. (a, b) Simulación de la magnitud de impedancia representada para el modelo óptimo propuesto. (c, d) Valores de los elementos del modelo eléctrico durante el ensayo.

En la **Figura 7-c**, R_B y C_B muestran un cambio bajo debido al bajo desarrollo de la biocapa sobre los sensores. En cambio, R_{SOL} muestra un aumento debido a la repercusión metabólica en el medio. En la **Figura 7-d** R_B y C_B cambian significativamente. R_B aumenta continuamente, mientras que C_B alcanza un máximo (día 11) y disminuye lentamente, probablemente debido a un cambio en el biofilm y en el metabolismo de sus levaduras. En este caso, R_{SOL} también muestra un aumento continuo a lo largo de los ensayos. Finalmente, en ambos casos, C_{DL} tiene un aumento moderado con el tiempo. Esto puede deberse a la relación de la superficie del biosensor con la muestra, en términos de comportamiento iónico y a la formación de biocapa.

4. Conclusiones

Se ha logrado monitorizar el crecimiento de *Brettanomyces bruxellensis* mediante espectroscopía de impedancia utilizando sensores basados en microelectrodos interdigitados (IDE) en un medio de cultivo selectivo. Se ha obtenido una mayor sensibilidad para el rango de frecuencias bajas (10 - 100 Hz).

En cuanto a las condiciones de medida, en el caso de agitación, la respuesta ha sido más rápida y mayor

comparando con estático (aumento del 8 %). Esto se debe a que se favorece el crecimiento de biocapas sobre la superficie del sensor y a un metabolismo más acelerado.

En el análisis de los parámetros eléctricos del circuito equivalente (R_{SOL} , R_B , C_B y C_{DL}) se ha confirmado también que las condiciones de agitación promueven la formación de biocapas sobre la superficie de los sensores. En cambio, en las condiciones estáticas, los cambios se deben principalmente a la actividad metabólica.

Finalmente, los resultados demuestran el potencial de esta tecnología para la realización de diagnóstico rápido, la inocuidad de los alimentos y la mejora de su calidad.

Agradecimientos

Agradecer a Guserbiot SL por las muestras y al Gobierno Vasco por la subvención de esta tesis doctoral.

Referencias

- [1] S. Benito, Identifying yeasts belonging to the *Brettanomyces/Dekkera* genera through the use of selective-differential media, *African J. Microbiol. Res.* 6 (2012) 6348–6357. doi:10.5897/AJMR12.440.
- [2] N. Rodrigues, G. Gonçalves, S. Pereira-Da-Silva, M. Malfeito-Ferreira, V. Loureiro, Development and use of a new medium to detect yeasts of the genera *Dekkera/Brettanomyces*, *J. Appl. Microbiol.* 90 (2001) 588–599. doi:10.1046/j.1365-2672.2001.01275.x.
- [3] L. Yang, R. Bashir, Electrical/electrochemical impedance for rapid detection of foodborne pathogenic bacteria, *Biotechnol. Adv.* 26 (2008) 135–150. doi:10.1016/j.biotechadv.2007.10.003.
- [4] N. Couniot, D. Flandre, L.A. Francis, A. Afzalian, Signal-to-noise ratio optimization for detecting bacteria with interdigitated microelectrodes, *Sensors Actuators, B Chem.* 189 (2013) 43–51. doi:10.1016/j.snb.2012.12.008.
- [5] A. Barata, J. Caldeira, R. Botelho, D. Pagliara, M. Malfeito-Ferreira, V. Loureiro, Survival patterns of *Dekkera bruxellensis* in wines and inhibitory effect of sulphur dioxide, *Int. J. Food Microbiol.* 121 (2008) 201–207. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.020.
- [6] I. Hernández, F. Barbero, *Brettanomyces bruxellensis* en la bodega, *VinoTeq.* 3 (2007) 18.
- [7] Z. Li, Y. Fu, W. Fang, Y. Li, Electrochemical Impedance Immunosensor Based on Self-Assembled Monolayers for Rapid Detection of *Escherichia coli* O157:H7 with Signal Amplification Using Lectin, *Sensors.* 15 (2015) 19212–19224. doi:10.3390/s150819212.
- [8] J. Paredes, S. Becerro, S. Arana, Label-free interdigitated microelectrode based biosensors for bacterial bio film growth monitoring using Petri dishes, 100 (2014) 77–83.
- [9] H. Ben-Yoav, A. Freeman, M. Sternheim, Y. Shacham-Diamand, An electrochemical impedance model for integrated bacterial biofilms, *Electrochim. Acta.* 56 (2011) 7780–7786. doi:10.1016/j.electacta.2010.12.025.
- [10] L. Yang, Y. Li, C.L. Griffis, M.G. Johnson, Interdigitated microelectrode (IME) impedance sensor for the detection of viable *Salmonella typhimurium*, *Biosens. Bioelectron.* 19 (2004) 1139–1147. doi:10.1016/j.bios.2003.10.009.

Herramientas de monitorización de Terapia Fotodinámica mediante fluorescencia

F. Fanjul-Vélez, L. Arévalo-Díaz, J. L. Arce-Diego

Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Av. de los Castros s/n, 39005 Santander (Cantabria), España, fanjulf@unican.es, arcedj@unican.es

Resumen

La Terapia Fotodinámica es una modalidad de tratamiento con resultados prometedores en varias disciplinas médicas, tales como dermatología, digestivo, oftalmología u otras. En el caso particular de dermatología se emplea en algunos servicios para combatir cánceres de piel no melanoma. Esta técnica presenta una elevada especificidad y eficacia en cierto tipo de lesiones cancerosas. Dado que el protocolo de aplicación suele ser fijo, según los estudios y ensayos del fabricante del fotosensibilizador, e independiente de la lesión y del paciente, en ocasiones se producen casos de recidiva asociados a este hecho. Para tratar de solventar esta situación, se requiere, por un lado, un adecuado estudio del proceso fotodinámico, de manera personalizada. Este estudio podría ayudar a estimar los parámetros óptimos del protocolo para maximizar la eficacia del tratamiento. Además, se requiere una herramienta que permita llevar a cabo un seguimiento del procedimiento fotodinámico, para asegurar que éste se está llevando a cabo según lo previsto inicialmente. En este trabajo se propone la fluorescencia como herramienta diagnóstica de monitorización. La relación entre las medidas de fluorescencia y el proceso fotodinámico, así como el establecimiento de parámetros iniciales de tratamiento adecuados, requiere del estudio del proceso fotodinámico, que se lleva a cabo también en este proceso, incluyendo la generación de radiación fluorescente. La herramienta se aplica a patologías cutáneas de cáncer de piel no melanoma, con objeto de comprobar las diferencias entre ellas, y así justificar la conveniencia de tratamientos personalizados.

1. Introducción

La Terapia Fotodinámica (*Photodynamic Therapy*, PDT) es una técnica de tratamiento con resultados prometedores en varias especialidades médicas, entre ellas digestivo, oftalmología o dermatología. Sus resultados son prometedores debido a su elevada especificidad en la destrucción de células tumorales, sus limitados efectos secundarios, y sus buenos resultados estéticos. Su mecanismo básico de funcionamiento está basado en las reacciones fotoquímicas que suceden en el tejido tumoral cuando la luz de una fuente óptica interactúa con la parte del tejido al que previamente se ha inoculado la substancia denominada fotosensibilizador [1]. La PDT presenta numerosas ventajas, tales como el carácter mínimamente invasivo, la especificidad para las células tumorales, o el uso de radiación no ionizante, frente a técnicas convencionales como la quimioterapia, la radioterapia o la cirugía. A pesar de estas ventajas, el tratamiento requiere, idealmente, de una personalización para adaptarse a las particularidades de la lesión y del paciente. En la realidad, los protocolos de aplicación clínica son fijos y vienen

marcados por el fabricante del fotosensibilizador, de acuerdo a los ensayos clínicos previamente efectuados. De esta forma, no se consideran variaciones propias de la lesión específica, o del paciente concreto al que se le está aplicando el tratamiento.

La práctica clínica ha demostrado que la respuesta al tratamiento es altamente dependiente del tipo de lesión y del paciente. Esto es particularmente relevante, por cuanto en este caso un inadecuado tratamiento da como resultado un proceso de recidiva, mediante el cual el tumor resurge y vuelve a generar la lesión original. La forma de resolver este problema estriba en el desarrollo de estudios profundos del proceso fotodinámico, que permitan verificar las relaciones de causa-efecto, desde los parámetros iniciales del tratamiento, hasta el efecto destructivo final. Con este tipo de análisis se podría estimar el conjunto de parámetros necesarios para obtener una destrucción de tejido tumoral completa.

Para ello es necesario estimar la distribución de radiación óptica en el tejido biológico [2], la evolución de los componentes moleculares involucrados en las reacciones fotoquímicas [3], la distribución del fotosensibilizador en el tejido [4], y el área necrotizada [5]. Además, si se pretende monitorizar el tratamiento, es importante estimar la emisión fluorescente del fotosensibilizador, teniendo en cuenta que sufre degradación por fotoquemado durante el propio tratamiento de PDT [6]. Además, es preciso conocer la distribución de radiación fluorescente emitida hacia el exterior del tejido, que sería en última instancia la señal que podría detectarse.

Toda esta información es crítica para asegurar que la cantidad de fotosensibilizador será adecuada y suficiente para el proceso fotodinámico. Una cantidad insuficiente daría lugar a una detención de los efectos del tratamiento, y en particular de la generación de especies de oxígeno reactivas, como el oxígeno singlete, que provoca la destrucción celular. La señal de fluorescencia generada se podría relacionar con este proceso, al menos en primera aproximación, y se podría comprobar in situ la evolución del tratamiento. El tratamiento personalizado sería entonces una realidad en el uso clínico de la PDT.

En este trabajo se trata de proponer un modelo predictivo del tratamiento fotodinámico, así como de la consiguiente generación de señal de fluorescencia. Con ello se trata de contribuir al objetivo anteriormente mencionado.

2. Análisis de la Terapia Fotodinámica

El análisis de la PDT implica el modelado de diferentes partes del proceso de tratamiento. En primer lugar es preciso conocer la absorción espacial de radiación óptica en el tejido. Además ha de conocerse la distribución del fotosensibilizador, que puede ser sistémico o tópico. La clave del tratamiento está en el proceso fotodinámico, de gran complejidad y con un gran número de parámetros involucrados. De este proceso fotodinámico surge una parte dedicada a la generación de radiación fluorescente, clave en la monitorización del tratamiento.

2.1. Distribución de radiación óptica de excitación

Para obtener la distribución de la radiación óptica de excitación se puede emplear la ecuación del transporte de la radiación (*Radiation Transport Theory*) tridimensional. De acuerdo con esta ecuación, la radiación óptica se ve afectada por absorción y esparcimiento de cada partícula que forma el tejido. Para el caso estacionario y en ausencia de fuentes internas, la ecuación se expresa como:

$$\hat{s} \cdot \nabla I(r, \hat{s}) = -(\mu_a + \mu_s)I(r, \hat{s}) + \frac{\mu_s}{4\pi} \int_{4\pi} p(\hat{s}, \hat{s}') I(r, \hat{s}') d\Omega' \quad (1)$$

En esta ecuación la radiación en el punto \vec{r} sigue la dirección del vector \hat{s} [1]. $I(r, \hat{s})$ es la intensidad específica, en unidades de potencia óptica por unidad de área y por unidad de ángulo sólido. $p(\hat{s}, \hat{s}')$ es la función de fase de esparcimiento, que refleja la distribución de probabilidad de que la radiación óptica sea esparcida en una determinada dirección. μ_a es el coeficiente de absorción, y μ_s es el coeficiente de esparcimiento. La resolución de esta ecuación de forma analítica es compleja, y se suelen emplearse aproximaciones. También es posible resolverla de manera numérica, con por ejemplo el método de Monte Carlo [2, 7].

2.2. Distribución del fotosensibilizador tópico

Debido a que la aplicación final será dermatológica, se considera una situación en la que el fotosensibilizador es tópico. Ciertos fotosensibilizadores son generados endógenamente en las células tumorales, una vez que el precursor aplicado sobre la superficie de la piel alcanza la célula objetivo. Esta descripción se corresponde, por ejemplo, con el fotosensibilizador Metvix®, que se utiliza en este trabajo. Este fotosensibilizador contiene un precursor, Metilaminolevulinato, que se sintetiza para obtener Protoporfirina IX (PpIX) en las células tumorales. La distribución y generación de la sustancia fotoactiva para un fotosensibilizador tópico fue propuesta con anterioridad [4]. La distribución del precursor se puede obtener mediante la ley de Fick. La de la sustancia fotoactiva depende de la concentración del precursor, así como de la tasa de eficiencia del proceso de conversión.

La evolución temporal del precursor aparece la siguiente ecuación:

$$M(t) = M_o \int_0^t \left(\frac{K}{\sqrt{D\pi t'}} e^{-\frac{z^2}{4Dt'}} - \frac{K^2}{D} e^{\frac{Kz}{D}} e^{-\frac{K^2 t'}{D}} \right) \cdot \operatorname{erfc} \left(\frac{K}{\sqrt{D}} \sqrt{t'} + \frac{z}{2\sqrt{Dt'}} \right) e^{-\frac{t'}{\tau}} dt' \quad (2)$$

En esta ecuación M es la concentración del precursor. D es el coeficiente de difusión del medio, y M_o la concentración del precursor en la superficie de la piel al inicio del proceso, en $t=0$. z es la distancia desde la capa denominada estrato córneo hasta el punto de interés. Esta capa presenta una permeabilidad K . τ es el tiempo de eliminación del precursor.

La generación de la sustancia fotoactiva se puede considerar mediante la ecuación:

$$S_0(t) = \varepsilon_p \frac{\tau_p}{\tau_{a \rightarrow p}} M(t) \quad (3)$$

Esta expresión aplica cuando el tiempo de eliminación de la sustancia fotoactiva es corto comparado con el tiempo de difusión del precursor. En estas condiciones hay proporcionalidad entre las concentraciones de uno y otro. En esta ecuación S_0 es la concentración de fotosensibilizador. τ_p es el tiempo de eliminación de la sustancia activa, y $\tau_{a \rightarrow p}$ el invertido en la generación del fotosensibilizador. ε_p es la tasa de eficiencia del proceso de conversión.

2.3. Proceso fotodinámico

La interacción fotoquímica entre el fotosensibilizador, la radiación óptica de la fuente y el oxígeno en el tejido genera agentes citotóxicos en forma de oxígeno singlete. Esta sustancia se encarga de inducir la muerte celular tumoral. La interacción, compleja, se puede estudiar mediante un sistema de ecuaciones diferenciales. Este sistema recoge la evolución temporal de las concentraciones de diversos componentes moleculares implicados, como el fotosensibilizador en estado base, en estado singlete excitado y triplete, S_0 , S_1 y T , el oxígeno en estado base 3O_2 , el oxígeno singlete 1O_2 , o los receptores de oxígeno singlete R [3, 8]:

$$\frac{d[S_0]}{dt} = -\nu\rho\sigma_{psa}[S_0] - kpb[^1O_2][S_0] + \frac{\eta_0}{\tau_1}[S_1] + \frac{\eta_{30}}{\tau_3}[T] + \frac{\alpha s}{\tau_3}[T][^3O_2] \quad (4)$$

$$\frac{d[S_1]}{dt} = -\frac{1}{\tau_1}[S_1] + \nu\rho\sigma_{psa}[S_0] \quad (5)$$

$$\frac{d[T]}{dt} = -\frac{\eta_{30}}{\tau_3}[T] - \frac{\alpha s}{\tau_3}[T][^3O_2] + \frac{\eta_{13}}{\tau_1}[S_1] \quad (6)$$

$$\frac{d[^3O_2]}{dt} = -\frac{\alpha s}{\tau_3}[T][^3O_2] + \frac{\eta_0}{\tau_0}[^1O_2] + P \quad (7)$$

$$\frac{d[^1O_2]}{dt} = -kpb[S_0][^1O_2] - kc\chi[R][^1O_2] - ksc[C][^1O_2] - \frac{\eta_0}{\tau_0}[^1O_2] + \frac{\alpha s}{\tau_3}[T][^3O_2] \quad (8)$$

$$\frac{d[R]}{dt} = -kc\chi[^1O_2][R] + U \quad (9)$$

La elección de los parámetros del modelo es clave, y redundante en gran medida en su exactitud [5, 8]. La resolución de este sistema de ecuaciones requiere de aproximaciones para sistemas de ecuaciones diferenciales rígidas.

2.4. Fluorescencia generada

Las moléculas de fotosensibilizador actúan, además de como generadoras de substancias citotóxicas, como emisoras de fluorescencia. Esta cualidad hace que la fluorescencia emitida sea el máximo interés en la planificación y monitorización del tratamiento. La fluorescencia está directamente relacionada con la cantidad de fotosensibilizador presente en el tejido [8]. Para calcular la cantidad de fluorescencia generada en el tejido biológico, es necesario añadir una ecuación adicional al sistema anteriormente mostrado:

$$P_f(r, z) = v \cdot \rho(r, z) \cdot \sigma_{psa} \cdot [S_0](r, z) \cdot \eta_{10} \cdot E_{\text{photon}_{z_{em}}} \cdot V(r, z) \quad (10)$$

En esta ecuación v es la velocidad de la luz en el tejido, ρ es la densidad de fotones en una localización espacial, σ_{psa} es la sección transversal de absorción de las moléculas del fotosensibilizador, η_{10} es la eficiencia de fluorescencia, $E_{\text{photon}_{z_{em}}}$ es la energía del fotón a la longitud de onda de emisión, y V es el volumen de cada vóxel de la rejilla de computación en coordenadas cilíndricas.

En consecuencia, es posible obtener distribuciones de fluorescencia como la que aparece en la Figura 1.

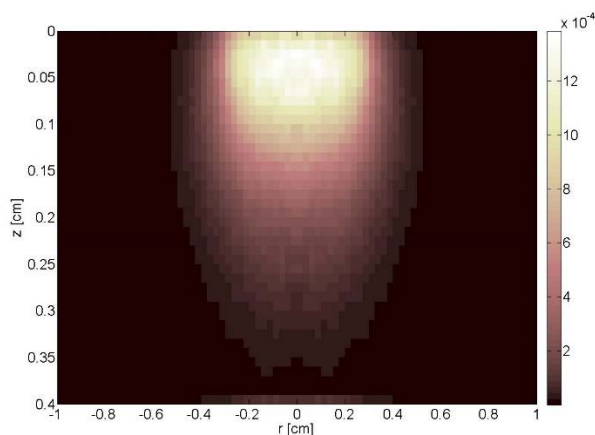


Figura 1. Distribución de fluorescencia generada en profundidad y dirección radial.

2.5. Fluorescencia emitida

La fluorescencia generada en el interior del tejido es de vital importancia. Sin embargo, a efectos de monitorización experimental, se hace necesario conocer la fluorescencia emitida hacia el exterior del tejido. Esto da lugar a patrones de emisión superficial. La obtención de este tipo de patrones requiere de nuevo de aproximaciones a la propagación de radiación óptica en medios turbios. Además, en este caso se trata de un sistema con múltiples fuentes de radiación a la longitud de onda de emisión. El problema se puede resolver de forma general mediante [9]:

$$J_f(r, t) = \sum_{r_s} \sum_{z_s} P_f(r_s, z_s, t) \Delta V(r_s, z_s) T(r_s, z_s, r) \quad (11)$$

En esta ecuación r_s y z_s son las coordenadas de las fuentes de fluorescencia, ΔV es el volumen incremental, y T la función de transferencia de fluorescencia. Esta función se puede obtener mediante el método de Monte Carlo.

3. Aplicación a tejidos patológicos

Una vez fijado el sistema y sus condicionantes, éste se aplica a patologías dermatológicas de tipo cáncer de piel no melanoma. El objetivo fundamental está relacionado con la obtención de patrones de fluorescencia superficial emitida, en función del tipo de lesión y del tiempo de tratamiento.

La aplicación se realiza sobre lesiones de tipo carcinoma basal celular (BCC), carcinoma basal celular infiltrativo y carcinoma de células escamosas. La estructura del tejido se compone de una capa de tejido tumoral de 3 mm, a la que continúa tejido sano. Es necesario conocer las propiedades ópticas tanto del tejido tumoral como del tejido sano, a la longitud de onda de excitación de 633 nm, y a la de emisión fluorescente. La distribución de fotosensibilizador tópico se ha asumido similar para todas las patologías, con un radio de aproximadamente 1 cm. Se han asumido las propiedades fotoquímicas del principio activo PpIX, y una distribución.

Las fuentes de fluorescencia, dentro del complejo modelo fotoquímico, se computan para diferentes intervalos temporales. La duración del tratamiento clínico está en torno a 10 minutos, aproximadamente. La irradiancia aproximada de la fuente óptica sobre el tejido dermatológico está en torno a los 100 mW/cm².

La Figura 2, obtenida mediante el modelo anterior, muestra la variación de la emisión de fluorescencia en la dirección radial para diversos tiempos de tratamiento.

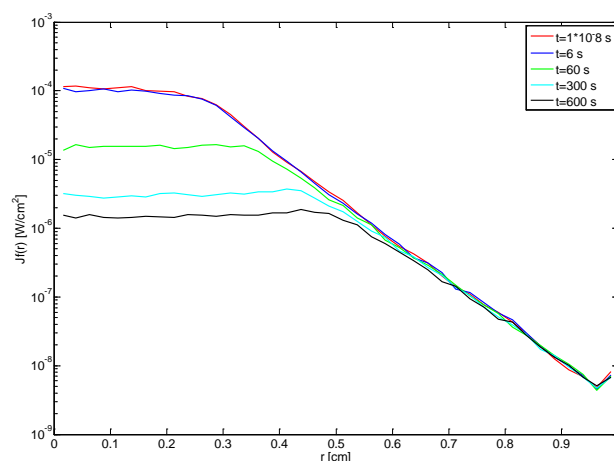


Figura 2. Emisión de fluorescencia en la dirección radial para BCC en diversos tiempos de tratamiento.

En la Figura 2 se puede apreciar, en primer lugar, cómo la emisión fluorescente en la dirección radial sigue el perfil espacial del haz incidente. Así, se aprecia una caída progresiva de esta radiación a partir de 0.3 cm. Es

interesante observar que esta caída no es abrupta, sino que, debido fundamentalmente al esparcimiento de la radiación, se produce emisión significativa más allá de la localización del haz incidente. En segundo lugar, otro de los efectos significativos tiene que ver con la reducción de la emisión de fluorescencia máxima a medida que el tiempo de tratamiento aumenta. Este efecto está provocado por el fotoquemado del fotosensibilizador, y está estrechamente relacionado con su eficacia terapéutica. Por lo tanto, es un signo de que el poder de destrucción tumoral en esa zona está decreciendo. A su vez, existe un efecto de apantallamiento que se va reduciendo con la evolución del tratamiento y el correspondiente fotoquemado. Eso hace que nuevas fuentes de fluorescencia más lejanas se activen y, en consecuencia, el esparcimiento haga que la emisión aumente en puntos radiales más lejanos. Incluso los máximos absolutos de fluorescencia se van desplazando hacia posiciones radiales más alejadas del punto central de iluminación.

Estos resultados confirman que la producción de oxígeno singlete citotóxico comienza en la zona central de irradiación, pero a medida que el tratamiento progresa, se desplaza a zonas más profundas y radialmente más alejadas del tejido. El patrón de fluorescencia puede ser recogido mediante una cámara CCD (Charge-Coupled Device) o CMOS (Complementary Metal-Oxide-Semiconductor), y comparado con las predicciones del modelo. De esta forma, se podría comprobar si el tratamiento sigue el resultado esperado a priori. Además, los diferentes parámetros iniciales del protocolo, tales como la concentración de fotosensibilizador, irradiancia de la fuente óptica, longitudes de onda de excitación y emisión, patrón espacial o radio eficaz podrían ser ajustados a las particularidades de la lesión y del paciente. A pesar de las ventajas de la PDT para el tratamiento de cáncer de piel no melanoma, la experiencia clínica demuestra que la respuesta no es siempre la misma con un protocolo fijo.

4. Conclusiones

La Terapia Fotodinámica es una técnica de tratamiento cuyo objetivo es la destrucción tumoral. Presenta un carácter mínimamente invasivo, utiliza radiación no ionizante y posee una elevada especificidad. Su funcionamiento se basa en la inoculación de una sustancia fotosensibilizadora, que se acumula preferentemente en el tejido maligno. La irradiación óptica de esa sustancia provoca la generación de especies citotóxicas, que inducen la destrucción celular. La compleja interrelación entre los numerosos parámetros involucrados hace que no sea sencillo conocer los óptimos para una aplicación concreta, sobre una lesión y un paciente concretos. Además, en la aplicación clínica de la PDT se emplean protocolos fijos, independientes de la lesión y del paciente.

En este trabajo se ha analizado en profundidad el proceso de funcionamiento de la PDT, de manera cuantitativa. Para ello en primer lugar se ha propuesto un complejo modelo que abarca las distintas fases del procedimiento. El tratamiento comienza con la propagación de radiación óptica en el tejido biológico, considerado como un medio turbio. Una vez conocida esta propagación y absorción en

el medio, se debe conocer la distribución del fotosensibilizador, tópico en este caso. El modelo fotoquímico incluye las concentraciones de las sustancias más significativas y su interrelación temporal. Esto incluye la generación de radiación fluorescente, susceptible de ser empleada para monitorizar el diagnóstico.

El sistema presentado se podría emplear para ayudar en la planificación de los parámetros del protocolo personalizado a la lesión y el paciente concretos, así como para una adecuada monitorización del tratamiento. Con ello se contribuiría a reducir las tasas de recidiva.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto del Plan Nacional de I+D+i del Ministerio de Economía y Competitividad de España “Nuevas fases activas en nano-óxidos de metales de transición y tierras raras estabilizadas a alta presión” (MAT2015-69508-P), cofinanciado con fondos FEDER, y por la Fundación San Cándido.

Referencias

- [1] Vo-Dinh T. *Biomedical Photonics Handbook*. CRC Press, Second Edition 2014 (ISBN: 9781420085143).
- [2] Wang L, Jacques SL, Zheng L. MCML – Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues. *Computer methods and programs in biomedicine*, vol 47, 1995, pp 131-146 (ISSN: 0169-2607).
- [3] Foster TH, Murant RS, Bryant RG, Knox RS, Gibson SL, Hilf R. Oxygen Consumption and Diffusion Effects in PDT. *Radiation Research*, vol 26, 1991, pp 296-303 (ISSN: 0033-7587).
- [4] Svaasand LO, Wyss P, Wyss MT, Tadir Y, Tromberg BJ, Berns MW. Dosimetry model for Photodynamic Therapy with topically administered photosensitizers. *Lasers in Surgery and Medicine*, vol 18, 1996, pp 139-149 (ISSN: 1096-9101).
- [5] Salas-García I, Fanjul-Vélez F, Arce-Diego JL. Photosensitizer absorption coefficient modeling and necrosis prediction during photodynamic therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, vol 114, 2012, pp 79–86 (ISSN: 1011-1344).
- [6] Liu B, Farrell TJ, Patterson MS. A dynamic model for ALA-PDT of skin: simulation of temporal and spatial distributions of ground-state oxygen, photosensitizer and singlet oxygen. *Phys. Med. Biol.*, vol 55, 2010, pp 5913-5932 (ISSN: 0031-9155).
- [7] Wang L, Jacques SL, Zheng L. CONV – Convolution for responses to a finite diameter photon beam incident on multi-layered tissues. *Computer methods and programs in biomedicine*, vol 54, 1997, pp 141-150 (ISSN: 0169-2607).
- [8] Salas-García I, Fanjul-Vélez F, Arce-Diego JL. Spatial photosensitizer fluorescence emission predictive analysis for photodynamic therapy monitoring applied to a skin disease. *Optics Communications*, vol 285, 2012, pp 1581–1588 (ISSN: 0030-4018).
- [9] Salas-García I, Fanjul-Vélez F, Arce-Diego JL. Superficial radially-resolved fluorescence and three-dimensional photochemical time-dependent model for Photodynamic Therapy. *Optics Letters*, vol 39, 2014, pp 1845-1848 (ISSN: 0146-9592).

Determinación experimental de la variabilidad intra-clase en tejido adiposo porcino ex-vivo mediante espectroscopía de reflectancia difusa

L. A. Arévalo-Díaz, F. Fanjul-Vélez, J. L. Arce-Diego

Grupo de Técnicas Ópticas Aplicadas, Departamento TEISA, Universidad de Cantabria, Av de los Castros s/n, 39005 Santander, España

arcedj@unican.es, fanjulf@unican.es

Resumen

En este trabajo se ha utilizado la técnica de espectroscopía óptica de reflectancia difusa para el estudio de tejidos biológicos. En numerosos trabajos se ha visto que la técnica tiene gran potencial en la detección de anomalías en tejidos. En estos trabajos se capturan datos de tejido sano y tejido enfermo con el fin de encontrar un modelo donde se distingan ambas clases. Sin embargo, hasta el momento no existe ningún estudio acerca de la variabilidad intra-clase en tejidos biológicos. En este trabajo se ha puesto en marcha un sistema de espectroscopía óptica y se han capturado espectros de reflectancia difusa de tejido adiposo para diferentes especímenes de cerdo. Los espectros resultantes permiten observar las bandas de absorción de la hemoglobina, el agua y los lípidos. Mediante un análisis de Componentes Principales, se ha encontrado que existe una variabilidad inter-clase (entre muestras de distintos especímenes), además de una variabilidad intra-clase (entre muestras de un mismo espécimen).

1. Introducción

La espectroscopía de reflectancia difusa ha demostrado tener un gran potencial como técnica óptica no invasiva para el estudio de tejidos biológicos. Como ya se sabe, la luz que absorbe y esparce una muestra depende de sus propiedades ópticas (coeficiente de absorción μ_a y de scattering reducido μ_s'). Esto hace que, con el espectro de reflectancia de un tejido, se pueda hallar información acerca de la muestra en estudio [1].

En la literatura se pueden encontrar medidas in-vitro, ex-vivo e in-vivo de las propiedades ópticas de diferentes tipos de tejidos, tanto en seres humanos como en animales [2]. Numerosos estudios han demostrado la viabilidad de la técnica para determinar el estado de un tejido y proporcionar información sobre la morfología, funcionalidad o composición bioquímica de la muestra. Esta capacidad de extraer información, más la posibilidad de ser integrada en fibra, hace de la técnica una buena opción para la detección clínica de anomalías en tejidos biológicos [3-9].

En la mayoría de los trabajos mencionados anteriormente, se realizan estudios estadísticos que permiten comparar espectros de tejido sano con los de tejido enfermo. Un abordaje muy común es la descomposición de los datos en componentes principales [10]. Mediante esta transformación matemática, en el nuevo espacio se aprecian diferencias entre tejido sano y tejido enfermo,

observándose una variabilidad inter-clase, siendo una de las clases tejido normal y la otra tejido anormal. En la realización de estos estudios es necesario acceder a datos que provienen de diferentes sujetos para tener una muestra estadísticamente significativa. Sin embargo, en ninguno de estos trabajos se realiza un estudio del comportamiento intra-clase. En este trabajo se pretende investigar qué sucede dentro de las clases al realizar una descomposición en componentes principales, para el caso de los tejidos biológicos. En este caso se estudiará tejido adiposo porcino sano, con lo que cada clase será cada espécimen. Los datos que vienen de cada animal se extraerán de diferentes regiones anatómicas. Una buena capacidad discriminativa entre clases dependerá de si la variabilidad intra-clase es suficientemente menor que la variabilidad inter-clase, de ahí la importancia de este trabajo.

El artículo se estructura de la siguiente forma. En la sección 2 se describe el montaje experimental utilizado y el procedimiento de extracción de las muestras. En la sección 3 se describe la forma en que los datos son tratados junto con los resultados. Y finalmente se presentan las conclusiones.

2. Métodos experimentales y materiales

A continuación se describe el montaje experimental junto con la descripción del material biológico utilizado.

2.1. Tejidos biológicos

Las muestras biológicas proceden de porcinos de la raza *Large White*, los cuales son utilizados en procedimientos médicos orientados a la práctica y adiestramiento de médicos cirujanos en el Hospital virtual de Valdecilla (HvV) de Santander, Cantabria. Después de estos procedimientos, el cerdo se eutanasia y tras la muerte, se procede inmediatamente a la extracción de los tejidos. Los cerdos tienen una edad de 2-4 meses, y un peso de 20-25 kg. Se extraen dos muestras del tejido adiposo ex-vivo de cada espécimen. En total se evaluaron tres especímenes de cerdos. Después de la extracción por parte del especialista veterinario, las muestras se almacenan en soportes diseñados especialmente para acoplarse en el sistema de medida. Los tejidos se envuelven con gasas empapadas con cloruro de sodio (9mg/ml) y se almacenan en el refrigerador, hasta que las muestras son procesadas.

2.2. Montaje experimental

Se ha diseñado y puesto en marcha un montaje óptico en volumen para espectroscopía de reflectancia [11]. Este que incluye: 1) una fuente de luz blanca QTH de 250W de Newport, la cual emite un espectro suave y continuo entre 200 y 2400 nm. 2) Un espectrómetro (StellarNet Inc. BLK-CXR-SR-50) con un rango de medida entre 220-1100nm, una resolución óptica de 0.5nm, y un detector CCD/PDA de 2048 pixeles con un tamaño de pixel de 14x200 μm . 3) Lentes y filtros que trabajen adecuadamente en el rango de longitudes de onda de interés y con diámetros de haces de más de una pulgada, además la óptica se escogió cuidadosamente para reducir aberraciones y permitir versatilidad en el montaje. Para el registro de los espectros se utiliza una fibra óptica de $\Phi 1\text{mm}$. En la Figura 1 se muestra un esquema del montaje experimental. La muestra, colocada en vertical, se ilumina con la fuente de luz blanca y se colecta la luz esparcida por el tejido con una lente. La observación se hace a 30° . Para la captura con el espectrómetro se ha usado un tiempo de integración de 50ms, se escanea un promedio de 10 señales y un filtrado con un boxcar=4. En la figura 1 se puede observar una fotografía de la muestra de tejido adiposo iluminada con el haz de luz blanca.

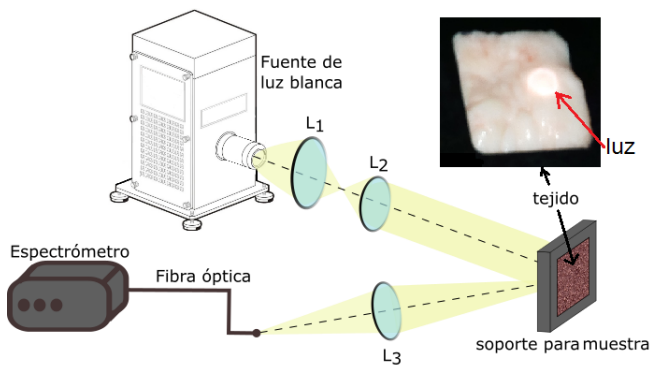


Figura 1. Montaje experimental para la espectroscopía óptica junto con una fotografía del tejido adiposo.

Para capturar los datos se seleccionan puntos sobre la muestra en una matriz 4x4 y se capturan 4 datos en cada punto. El tejido ocupa un área de $30 \times 30 \text{mm}^2$, por lo tanto la separación de cada punto es de 6mm. El escaneo se realiza de forma manual mediante un tornillo micrométrico.

3. Resultados preliminares

3.1. Pre-tratamiento de los datos

El espectro de reflectancia de la muestra $R_m(\lambda)$ se encuentra a partir de la señal capturada $S_m(\lambda)$, el espectro de emisión de la fuente (capturada con un patrón blanco) $S_e(\lambda)$ y la señal de fondo $S_f(\lambda)$, de esta forma:

$$R_m(\lambda) = \frac{S_m(\lambda) - S_f(\lambda)}{S_e(\lambda) - S_f(\lambda)} \times 100\% \quad (1)$$

Antes de realizar el análisis de los datos, es necesario realizar un pre-tratamiento de los datos para remover ruido sistemático (debidas al instrumento de medida y a la muestra en sí). Para ello se remueven tendencias lineales

(detrend) y el ruido con un filtro de Savitzky-Golay. Antes de realizar alguna comparación, también es necesario normalizar los espectros haciendo que su media sea cero y su desviación típica 1.

En la Figura 2 se muestra un ejemplo de algunos espectros medidos de una misma muestra antes y después del pre-tratamiento.

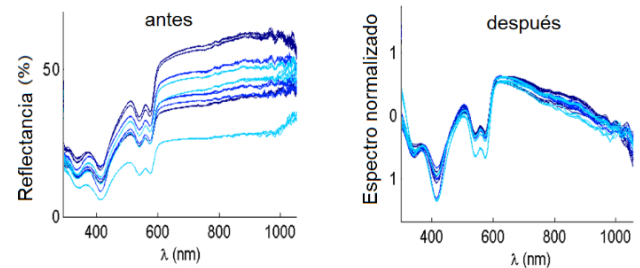


Figura 2. Espectros de una misma muestra antes y después del pre-tratamiento.

3.2. Espectro de reflectancia difusa para los tejidos biológicos

En los tejidos biológicos, la absorción es causada principalmente por la hemoglobina, las moléculas de agua o macromoléculas tales como proteínas y pigmentos. Mientras que la absorción en la región IR puede atribuirse principalmente a las moléculas de agua y algunos lípidos [12]. Tanto las proteínas como los pigmentos absorben principalmente en el espectro UV y el visible. Las proteínas, en particular, tienen un pico de absorción en aproximadamente 280 nm [13]. Uno de los agentes principales presentes en los tejidos es la hemoglobina. Las propiedades de absorción de la sangre las definen la absorción de las formas tanto oxi como desoxi. La hemoglobina (en estado desoxigenado) se caracteriza por dos bandas de absorción, con sus máximos situados en 425 y 555nm. En estado oxigenado, la hemoglobina tiene tres bandas de absorción, cuyos máximos se localizan en 415, 540 y 575nm. En el caso del tejido adiposo, en su espectro se observan bandas de absorción relacionadas con el agua (1210, 1400–1480 y 1900–1980 nm) y con los lípidos (1210, 1720–1760 y 2120–2140 nm) [14].

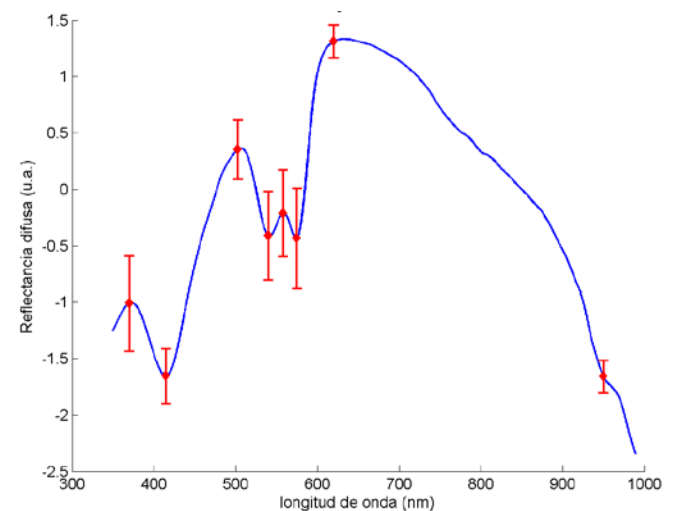


Figura 3. Espectro de reflectancia difusa para tejido adiposo porcino ex-vivo.

En la Figura 3 se muestra un ejemplo del espectro obtenido para el caso del tejido adiposo. La curva representada corresponde a un promedio de varios espectros capturados. Los puntos rojos han sido seleccionados ya que indican la absorción de la hemoglobina y del agua. Las líneas verticales rojas indican la varianza de los datos. Se observa que la señal disminuye con el aumento de la longitud de onda más allá de 650nm, comportamiento típico del coeficiente de scattering de los tejidos biológicos [15].

3.3. Reducción de las dimensiones del problema

Un algoritmo muy común para reducir las dimensiones de un problema es el análisis de componentes principales PCA (Principal Components Analysis). El análisis PCA transforma un número de variables posiblemente correlacionadas en un número de variables igual o menor, no correlacionadas (ortogonales) por medio de una proyección, el nuevo espacio se denomina el espacio de las componentes principales.

Cada espectro almacenado tiene 1750 datos, que equivalen a datos capturados en un rango de 225.5nm a 1100.5nm, cada 0.5nm. Por medio de la transformación PCA, se hace una reducción de 1750 dimensiones a 2 dimensiones. En la Figura 4 se muestra el resultado de aplicar el algoritmo a las observaciones medidas. Se ha representado en el eje x la primera componente principal (PC1) y en el eje y la segunda (PC2) de cada observación. Estas dos primeras componentes contienen el 84% de la variancia total de los datos.

En el gráfico de la Figura 4, cada color representa el espécimen de donde se extrajeron los espectros. En este nuevo espacio es posible observar una separación entre clases, existe un agrupamiento de los datos que provienen de un mismo espécimen. Los datos que vienen del cerdo 1, el cerdo 2 y el cerdo 3 se agrupan en cúmulos en el espacio, la región que le corresponde a cada animal está marcada con una elipse en la Figura 4.

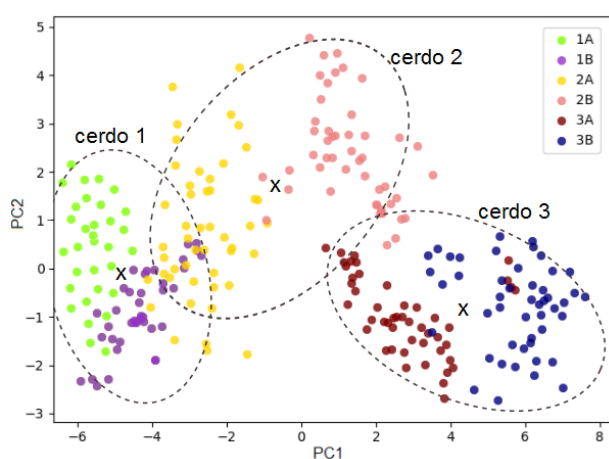


Figura 4. Primera y segunda Componente Principal de los espectros de reflectancia de diferentes muestras de tejido adiposo provenientes de distintos especímenes. Se observa agrupación de datos que vienen de distintos especímenes (1,2,3) y agrupación de datos que provienen de distintas regiones anatómicas (A,B) dentro de cada clase.

La elipse que encierra cada cúmulo se calcula a partir de la distancia de los puntos a la distribución a la que pertenecen, teniendo en cuenta las desviaciones típicas de la distribución [16]. Para cada espécimen, se calcula la distancia de cada punto a su centroide. La elipse corresponde a puntos del espacio que están a una misma distancia del centroide. La elipse contiene el tercer cuartil de la distribución de distancias de cada clase (75%). Esta separación de clases, reflejada en una mínima superposición de las elipses calculadas, indica que hay diferencias espectrales entre observaciones que provienen de diferentes especímenes (variabilidad inter-clase).

Por otro lado, en la Figura 4 también se observa que los datos de un mismo cerdo, pero provenientes de diferentes ubicaciones anatómicas (A y B), también se agrupan entre ellos. Lo que indica diferencias entre las observaciones de un mismo cerdo, pudiéndose concluir que existe una variabilidad dentro de las clases.

Estos interesantes resultados han demostrado que existe una variabilidad inter-clase (entre sujetos) e intra-clase (entre diferentes regiones anatómicas). Mientras la variabilidad intra-clase sea menor que la variabilidad inter-clase, es posible realizar una buena diferenciación entre clases.

4. Conclusiones

En este trabajo se puso en marcha un sistema de espectroscopía de reflectancia difusa para el estudio de tejidos biológicos. Las muestras provienen directamente de cerdos manipulados en el hospital virtual y que, después de su extracción, pasan a ser medidas con el sistema que se diseñó. Tras un pre-procesamiento de los datos se obtienen espectros de reflectancia difusa para tejido adiposo. Se encuentra que el espectro resultante está acorde con resultados obtenidos en trabajos reportados en la literatura. En el espectro se pueden encontrar picos correspondientes a las bandas de absorción de la hemoglobina, el agua y algunos lípidos. Se realiza un análisis de componentes principales (PCA) y se encuentra que existe una variabilidad entre las muestras (inter-clase). Más aún, se encuentra que también existe un agrupamiento de los datos que corresponden a diferentes muestras extraídas de un mismo animal (variabilidad intra-clase).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido parcialmente financiado por el proyecto del Plan Nacional de I+D+i del Ministerio de Economía y Competitividad de España "Nuevas fases activas en nano-óxidos de metales de transición y tierras raras estabilizadas a alta presión" (MAT2015-69508-P), cofinanciado con fondos FEDER, y por la Fundación San Cándido.

Referencias

- [1] Niemz MH. Laser-tissue interactions: fundamentals and applications. Chap. 2. Springer Science & Business Media, 2013.

- [2] Jacques SL. Optical properties of biological tissues: a review. *Physics in medicine and biology*, vol 58, issue 11, 2013, pp R37. NMR-based metabonomics studies. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, vol 109, issue 2, 2011, pp 162-170
- [3] Koenig F, Larne R, Enquist H, McGovern FJ, Schomacker KT, Kollias N, Deutsch TF. Spectroscopic measurement of diffuse reflectance for enhanced detection of bladder carcinoma. *Urology*, vol 51, issue 2, 1998, pp 342-345.
- [4] Zonios G, Perelman LT, Backman V, Manoharan R, Fitzmaurice M, Van Dam J, Feld MS. Diffuse reflectance spectroscopy of human adenomatous colon polyps in vivo. *Applied Optics*, vol 38, issue 31, 1999, pp 6628-6637.
- [5] Cerussi A, Shah N, Hsiang D, Durkin A, Butler J, Tromberg BJ. In vivo absorption, scattering, and physiologic properties of 58 malignant breast tumors determined by broadband diffuse optical spectroscopy. *Journal of biomedical optics*, vol 11, issue 4, 2006, pp 044005-044005.
- [6] Bale G, Mitra S, Meek J, Robertson N, Tachtsidis I. A new broadband near-infrared spectroscopy system for in-vivo measurements of cerebral cytochrome-c-oxidase changes in neonatal brain injury. *Biomedical optics express*, vol 5, issue 10, 2014, pp 3450-3466.
- [7] Garcia-Urbe A, Kehtarnavaz N, Marquez G, Prieto V, Duvic M, Wang LV. Skin cancer detection by spectroscopic oblique-incidence reflectometry: classification and physiological origins. *Applied Optics*, vol 43, issue 13, 2004, pp 2643-2650.
- [8] Pifferi A, Torricelli A, Taroni P, Bassi A, Chikoidze E, Giambattistelli E, Cubeddu R. Optical biopsy of bone tissue: a step toward the diagnosis of bone pathologies. *Journal of biomedical optics*, vol 9, issue 3, 2004, pp 474-480.
- [9] Senapati AK, Radhakrishnan H, Liu H, Peng YB. Detection of degeneration in rat sciatic nerve by in vivo near infrared spectroscopy. *Brain research protocols*, vol 14, issue 2, 2005, pp 119-125.
- [10] Bishop CM. Pattern recognition and machine learning. Chap 12. Springer, 2006.
- [11] Vo-Dinh T. Biomedical photonics handbook: biomedical diagnostics. Chap. 6. CRC press, 2014.
- [12] Cao Q, Zhegalova NG, Wang ST, Akers WJ, Berezin MY. Multispectral imaging in the extended near-infrared window based on endogenous chromophores. *Journal of biomedical optics*, vol 18, issue 10, 2013, pp 101318-101318.
- [13] Boulnois JL. Photophysical processes in recent medical laser developments: a review. *Lasers in Medical Science*, vol 1, issue 1, 1986, pp 47-66.
- [14] Zamora-Rojas E, Aernouts B, Garrido-Varo A, Pérez-Marín D, Guerrero-Ginel JE, Saeys W. Double integrating sphere measurements for estimating optical properties of pig subcutaneous adipose tissue. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, vol 19, 2013, pp 218-226.
- [15] Bashkatov AN, Genina EA, Kochubey VI, Tuchin VV. Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm. *Journal of Physics D: Applied Physics*, vol 38, issue 15, 2005, pp 2543-2555.
- [16] Goodpaster AM, Kennedy MA. Quantification and statistical significance analysis of group separation in

Biomateriales II

Jueves, 30 de Noviembre

Estudio de deformaciones en la articulación del hombro con técnicas experimentales optomecánicas

D. A. Almeida-Galárraga¹, A. Ros-Felip¹, L. Serrano-Mateo², F. Marco-Martinez²

¹ Departamento de Mecánica, ETSII UPM - Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España, {da.almeida@alumnos.upm.es, aros@etsii.upm.es}

² Servicio de Traumatología y Cirugía Ortopédica, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España, {fmarcomart,l.serrano.mateo}@gmail.com

Resumen

El complejo articular del hombro supone un reto en el conocimiento biomecánico del mismo debido a su complejidad y sus numerosas estructuras implicadas. Este estudio presenta un modelo basado en técnicas de fotoelasticidad que representa la distribución de tensiones al colocar el hombro en una posición de equilibrio de 90° de abducción. Mediante la congelación de tensiones podemos analizar la distribución de las mismas tanto en la superficie como en el interior de la escápula y el húmero. El presente modelo aporta un análisis cualitativo de la distribución de las tensiones en el hombro, que puede ser de utilidad como complemento a otros modelos biomecánicos numéricos publicados.

1. Introducción

La biomecánica permite obtener información relevante del movimiento articular para construir modelos físicos a partir de ingeniería, anatomía y otras disciplinas [1]. El hombro es un complejo articular que permite un amplio rango de movimiento en el brazo. Está formado por cuatro uniones articulares (glenohumeral, acromioclavicular, escapulotorácica y esternocostoclavicular) [2].

La práctica deportiva y el envejecimiento de la población son los factores más comunes, asociados a las lesiones del hombro. [3] Se ha estimado una prevalencia en atención primaria del hombro doloroso del 17,2%, con un pico de afectación entre los 50 y 59 años [4].

Cuando un músculo del complejo articular del hombro se tensiona, esa fuerza se transmite hacia el hueso donde se inserta dicho músculo, el cual absorbe gran parte de la tensión y en algunos casos su totalidad, si la tensión supera un umbral, esto provocará modificaciones estructurales en el tejido propio del hueso, causando luxaciones u otras afecciones. A partir de la fotoelasticidad se puede analizar dichas tensiones.

Se ha realizado un análisis en profundidad de la anatomía del hombro [5], biomecánica del hombro [1], modelos biomecánicos teóricos, numéricos, físicos [6] y fotoelasticidad [7, 8, 9, 10]; con el fin de estudiar movimientos del hombro y su relación con todas las estructuras que forman el conjunto articular, para prevenir lesiones y mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Nikooyan et al. estima las fuerzas musculares y de reacción conjunta en el hombro. Aplica una técnica de registro de

datos para medir la cinemática de la articulación glenohumeral tridimensional in vivo. El modelo se ha verificado cualitativamente con electromiografía [6].

La técnica experimental optomecánica de campo continuo ha sido utilizada anteriormente en varios trabajos de biomecánica. Sin embargo, no hay suficientes estudios del complejo articular del hombro. Fessler et al. realizó pruebas fotoelásticas usando congelación de tensiones para determinar la magnitud, posición y extensión de las concentraciones de tensión que se producen en placas simétricas sometidas a cargas directas [7].

Murphy et al. diseñó un estudio fotoelástico para visualizar los patrones de distribución de tensiones 3D en un modelo de revestimiento glenoideo de polietileno cementado para tres condiciones de carga clínicamente relevantes. El método complementa a los estudios de elementos finitos para el análisis de fuerzas de contacto dentro de la glenoide [8].

Peindl et al. realizó un análisis fotoelástico de congelación de tensiones en el hombro, encontrando fuertes tensiones en el cuello de la glenoide [9].

Pelletier et al. usando el método fotoelástico, examinó las diferencias en los estados de deformación entre los glenoides intactos y después de la implantación de prótesis, en cuatro condiciones de carga correspondientes a cuatro ángulos de abducción: 0°, 30°, 60° y 90° [10].

En este estudio se demuestra que las incertidumbres asociadas al problema (características mecánicas de la articulación del hombro, áreas de contacto de los huesos, grados de adhesión y características de fricción, subjetividad de las técnicas de implantación, etc.) son de tal magnitud, que no permiten abordarlo de manera fiable con técnicas de modelización numéricas, siendo más recomendable la vía experimental.

El objetivo del estudio es realizar un análisis cualitativo del complejo articular del hombro aplicando una técnica óptica de campo continuo. El método experimental que se utiliza es aplicable al análisis de tensiones y deformaciones en los huesos húmero y escápula de la articulación. Se busca un ensayo sencillo, reversible, repetible, no destructivo, con control riguroso de parámetros (cargas y condiciones de contorno) y registro fiable de resultados.

2. Materias y métodos

Se realiza un estudio cualitativo empleando fotoelasticidad y se analiza la transmisión de cargas y fricción del par húmero-escapula empleando dicha técnica sobre un modelo simplificado del complejo articular del hombro.

2.1. Fabricación de los huesos sintéticos

Se realiza una réplica de los huesos reales con resina epoxi mediante técnicas de moldeo en bloque. La técnica de moldeo es por colada de resina en moldes de silicona (Figura 1). La resina epoxi es un polímero termoestable con propiedades ópticas adecuadas para el análisis de fotoelasticidad, además replica fielmente los huesos y tiene propiedades mecánicas similares. El peso de las réplicas tiene que ser equivalente a los huesos reales.



Figura 1. Técnica de moldeo en bloque.

2.2. Montaje de transmisión de carga

Con la literatura investigada [1, 6, 10] y con información de estudios de modelos experimentales basados en cinemática se realiza el montaje de transmisión de carga en posición de equilibrio (abducción a 90°).

El modelo de fuerzas en la posición de equilibrio indicada es simplificado, esto quiere decir que no se usan todas las fuerzas musculares que intervienen en abducción a 90°. El estado de equilibrio se consigue con tres cargas de músculos agonistas (deltoides, supraespinoso, subescapular). Se selecciona el deltoides y el supraespinoso porque son los músculos que tienen mayor intervención en esta posición del brazo, mientras que el subescapular es necesario para estabilizar el montaje.

Para calcular las cargas consideradas se realiza 11 experimentos en la posición de equilibrio. El primer ensayo se efectúa con el 10% de la fuerza de cada músculo de un estudio basado en cinemática del hombro, se deja 24 horas y se analiza si existe desplazamiento angular con respecto a los 90° de abducción. Después de realizar algunas pruebas el ensayo se vuelve más estable y el desplazamiento es nulo. Se calcula el promedio obtenido en el ensayo de cargas y se muestra en la tabla 1.

Músculo	Fuerza (N)	Peso (g)
Deltoides (C)	4,067±0,346	415±33,630
Supraespinoso (B)	3,283±0,262	335±25,525
Subescapular (A)	2,625±0,789	268±76,717

Tabla 1. Resultado del ensayo de cargas.

En la figura 2 se observa el montaje del modelo físico en la estructura con la acción de fuerzas que actúan en el conjunto articular del hombro.

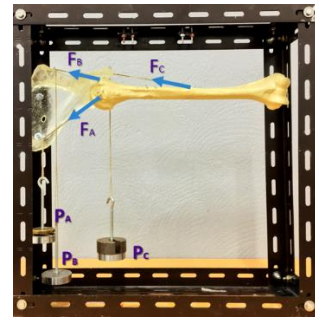


Figura 2. Configuración de equilibrio de fuerzas.

2.3. Aplicación de técnicas fotoelásticas

Las pruebas experimentales se realizan mediante un equipo de ensayos termo-fotoelásticos diseñado y fabricado en el laboratorio.

La fotoelasticidad es una técnica experimental que permite el estudio de esfuerzos y deformaciones en materiales birrefringentes, sometidos a carga [11]. Estos materiales tienen la propiedad de descomponer un haz de luz en dos componentes ortogonales y transmitir a diferentes velocidades [12].

La fotoelasticidad permite la visualización directa de los estados tensionales provocados por las cargas aplicadas, dando lugar a franjas isocromáticas e isóclinas [12]. El factor de franja del material viene dado por la sensibilidad óptica, a menor valor de f mayor sensibilidad. El epoxi tiene buenas propiedades fotoelásticas [13], ya que tiene un factor de franja (f) de 10,2 kN/m.

Para realizar el ensayo y tratamiento térmico el conjunto se introduce en una cámara isoterma a 60° centígrados (C) (figura 3), algo superior a la de transición vítrea de la resina epoxi empleada. Manteniendo el estado de carga durante todo el ciclo térmico hasta el enfriamiento (lento), se obtiene un efecto de congelación de las tensiones internas, que permanecen inalteradas en el material a temperatura ambiente y después de retirar la carga [14].

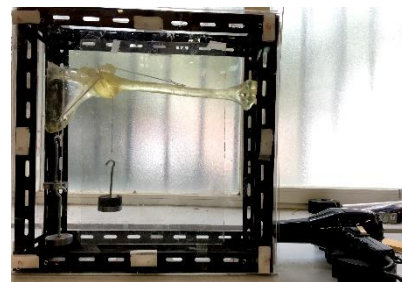


Figura 3. Ensayo en cámara isoterma a 60°C.

En la figura 4 se identifica el montaje de polarización, después que la articulación ha sido sometida a congelación de tensiones. Para capturar las imágenes se utiliza un polarizador circular. Cuando un rayo de luz polarizada pasa a través los huesos de epoxi, emergen de él dos componentes linealmente polarizadas, perpendiculares entre sí. Al alinearlas nuevamente con un segundo instrumento polarizador hay un retardo de fase, en ese momento se forman de las franjas de color asociadas a los índices de refracción y a los esfuerzos aplicados sobre el

hueso (húmero y escápula) [15]. Cuando las tensiones son visualizadas correctamente se realiza la fotografía.

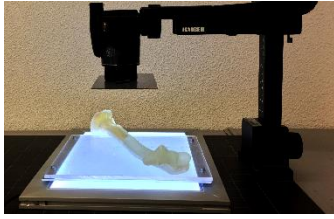


Figura 4. Estudio de fotoelasticidad 3D del húmero.

Para estudiar la fotoelasticidad en el húmero se realiza en 3D y 2D. El análisis en 2D se efectúa cortando cinco rodajas o secciones de la cabeza humeral a 35° de la posición de equilibrio en abducción a 90°, con un espesor de 9 centímetros (cm) por rodaja (figura 5). Finalmente, se realiza el mismo procedimiento anterior, tomando fotografías en la cara anterior y posterior de los cortes de la cabeza humeral, utilizando para el experimento el polariscopio circular.

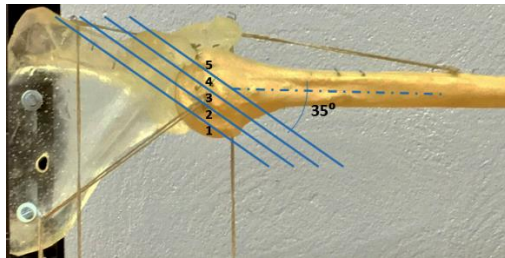


Figura 5. Corte húmero para análisis de fotoelasticidad en 2D.

3. Resultados

El análisis de la escápula se realiza en la pieza entera porque las características anatómicas del hueso lo permiten (grande, triangular, ancho y plano). Las franjas de color se pueden visualizar fácilmente en todo el hueso.

El estudio del húmero se ejecuta en dos partes. Los primeros resultados se obtienen del análisis de huesos en 3D, posteriormente, se realiza un segundo análisis en 2D. El análisis en 2D se efectúa a partir de cortes de la cabeza humeral en rodajas como se explica en la metodología. De esta forma, se puede observar las tensiones internas del contacto escapula-húmero.

3.1. Escápula

En la figura 6 se muestra el análisis experimental optomecánico de campo continuo en la escápula.

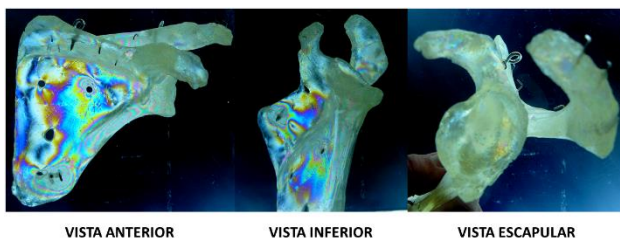


Figura 6. Análisis fotoelasticidad escápula.

3.2. Húmero

En la figura 7 se identifica el análisis en 3D de toda la pieza del húmero.

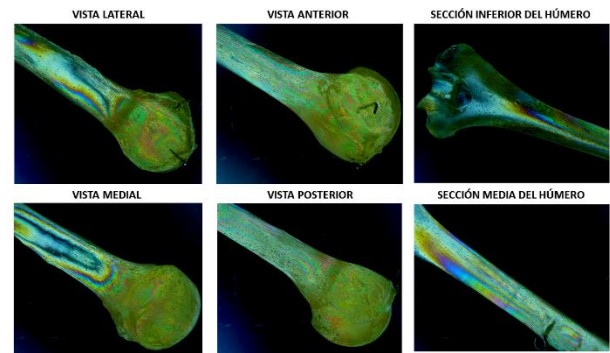


Figura 7. Análisis fotoelasticidad húmero.

El análisis de fotoelasticidad del húmero en 2D se realiza por secciones, identificando las franjas de color asociadas a los esfuerzos aplicados por los músculos y el contacto en esta posición de equilibrio. En la figura 8 se identifica las cinco secciones del análisis en 2D.

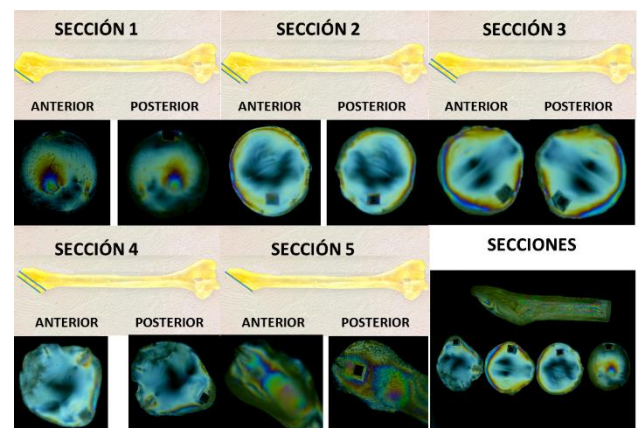


Figura 8. Análisis fotoelasticidad húmero por secciones.

En la posición de equilibrio estudiada, aparecen concentraciones de tensiones de compresión en zonas de contacto entre la escápula y el húmero. Las tensiones en la cabeza humeral no son casi visibles en el análisis del húmero en 3D. Sin embargo, cuando se realiza el análisis 2D del húmero se pronuncian más las franjas de colores en las secciones más próximas al contacto de la cabeza humeral y la cavidad glenoidea (sección 1,2 y 3).

Para este análisis la zona más importante de estudio en la escápula es la cavidad glenoidea, tiene concentraciones de tensiones de compresión insignificantes, lo mismo sucede con el acromion y coracoides. Existe concentración fuerte de tensión en la cara anterior de la escápula (alrededor de los tornillos de fijación del montaje), las cuales no son representativas porque son producidas por sujeción a la estructura del ensayo fotoelástico.

En las inserciones musculares del deltoides, supraespinoso y subescapular en el húmero y escápula, los espectros fotoelásticos revelan concentraciones de tensiones. Las inserciones en el hueso se simulan mediante anclajes, cuya acción es tan puntual que crea concentración de tensiones a su alrededor. Esto se debe a la transmisión local de las cargas por parte los músculos. La fuerza del músculo se transmite hacia el hueso, y este absorbe parte de esa tensión.

4. Discusión de resultados

Los modelos matemáticos y los ensayos biomecánicos propuestos por investigadores han mostrado importantes limitaciones (recolección de datos complicada y costosa, sensibilidad ante errores de medición, etc.). Por esta razón, en el estudio se propone una metodología experimental, estudiada hace varios años pero que se ha dejado de utilizar por motivos de precisión de resultados. Sin embargo, hay estructuras que tienen que ser analizadas físicamente en el laboratorio por su dificultad de análisis matemático.

Los modelos experimentales tienen la dificultad de simular todas las cargas musculares. Por esta razón en este estudio se ha propuesto un modelo de cargas simplificado en una posición de equilibrio específica (abducción a 90°). El montaje de transmisión de cargas es sencillo y estable.

La técnica aplicada en este estudio ha sido utilizada por diferentes autores en el campo de la biomecánica del hombro [7, 8, 9, 10]. El trabajo puede complementar a estos otros estudios en el análisis de fuerzas de contacto en la articulación glenohumeral. En cualquier estudio numérico es imprescindible una validación experimental, tanto para la entrada de datos como las revisiones de los modelos.

En el presente modelo experimental podemos apreciar la distribución de tensiones en el hombro, encontrando mayor concentración en la zona de contacto entre escápula y húmero, así como en la zona de representación de las inserciones musculares, simuladas mediante anclajes.

En la cavidad glenoidea de la escápula aparecen tensiones en la zona de contacto con el húmero, pero no son muy significativas, además las concentraciones de tensiones encontradas en el acromion y la coracoides son insignificantes. Cabe destacar que en la zona alrededor de los tornillos del montaje se acumulan tensiones que no son representativas de la anatomía normal.

El estudio tiene dos limitaciones importantes, ofrece una única posición de equilibrio (90°), por lo que hará falta el análisis de otras posiciones para identificar cómo se distribuyen las tensiones. Además, únicamente se representan tres músculos, los cuales son suficientes para representar la distribución de tensiones a las que se ven sometidos los huesos.

La fotoelasticidad da una visión global de las fuerzas interiores en toda la pieza (escápula y húmero). Los resultados son muy visuales permitiendo una interpretación inmediata e intuitiva, sin necesidad de cálculos, lo que la hace especialmente atractiva en problemas multidisciplinarios. Además, en su variante de congelación de tensiones permite estudiar zonas internas, lejos del contorno, lo que no es posible con otras técnicas.

5. Conclusiones

Se ha desarrollado y aplicado un procedimiento experimental para estudiar a nivel cualitativo las tensiones internas en los huesos del hombro. La técnica utilizada es una variante del método fotoelástico que permite el análisis de estructuras 3D bajo cualquier estado de carga. El método se ha aplicado a un caso de carga en abducción a 90°, demostrándose su validez y utilidad en el ámbito de la

Biomecánica. Los resultados son de interpretación inmediata e intuitiva incluso para personal no especializado. El método puede aplicarse a otros complejos articulares y tiene gran proyección en el estudio de los efectos de la implantación de prótesis articulares.

Referencias

- [1] Izquierdo, M., & Redín, M. I. (2008). Biomecánica y bases neuromusculares de la actividad física y el deporte. Ed. Médica Panamericana.
- [2] Kapandji, A. I. (2012). Fisiología articular. Tomo 1. Miembro superior. Sexta Edición.
- [3] Suárez-Sanabria, N., & Osorio-Patiño, A. M. (2013). Biomecánica del hombro y bases fisiológicas de los ejercicios de Codman. *Ces medicina*, 27(2).
- [4] Frau-Escales, P., Langa-Revert, Y., Querol-Fuentes, F., Mora-Amérigo, E., & Such-Sanz, A. (2013). Trastornos músculo-esqueléticos del hombro en atención primaria. Estudio de prevalencia en un centro de la Agencia Valenciana de Salud. *Fisioterapia*, 35(1), 10-17.
- [5] Drake, R., Vogl, A. W., & Mitchell, A. W. (2009). *Gray's Anatomy for Students E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- [6] Nikooyan, A. A., Veeger, H. E. J., Westerhoff, P., Graichen, F., Bergmann, G., & Van der Helm, F. C. T. (2010). Validation of the Delft Shoulder and Elbow Model using in-vivo glenohumeral joint contact forces. *Journal of biomechanics*, 43(15), 3007-3014.
- [7] Fessler, H., Rogers, C. C., & Stanley, P. (1969). Shouldered plates and shats in tension and torsion. *Journal of Strain Analysis*, 4(3), 169-179.
- [8] Murphy, L. A., & Prendergast, P. J. (2005). Acromion-fixation of glenoid components in total shoulder arthroplasty. *Journal of biomechanics*, 38(8), 1702-1711.
- [9] Peindl, R. D., Harrow, M. E., Connor, P. M., Banks, D. M., & D'Alessandro, D. F. (2004). Photoelastic stress freezing analysis of total shoulder replacement systems. *Experimental mechanics*, 44(3), 228-234.
- [10] Pelletier, M. H., Langdown, A., Gillies, R. M., Sonnabend, D. H., & Walsh, W. R. (2008). Photoelastic comparison of strains in the underlying glenoid with metal-backed and all-polyethylene implants. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery*, 17(5), 779-783.
- [11] Rincón, E. R., Martínez, L. C., & Ibáñez, D. I. (2006). Resistencia de materiales: determinación de tensiones y deformaciones. Editorial Visión Libros.
- [12] de León, J. C. B., Martínez, A. R., & Giraldo, F. L. (2015). Estudios de fotoelasticidad: desarrollos y aplicaciones. *REVISTA POLITÉCNICA*, 9(16), 27-36.
- [13] Wang, L., Wang, K., Chen, L., Zhang, Y., & He, C. (2006). Preparation, morphology and thermal/mechanical properties of epoxy/nanoclay composite. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing*, 37(11), 1890-1896.
- [14] Fernández, M. S. B. (2011). Fotoelasticimetría: Modernizando una vieja técnica. *DYNA-Ingeniería e Industria*, 86(3).
- [15] Briñez de León, J. C., Restrepo Martínez, A., & López Giraldo, F. (2013). ESTUDIOS DE FOTOELASTICIDAD: DESARROLLOS Y APLICACIONES. *Revista politécnica*, 9(16).

RADIOPAQUE MATERIAL FOR 3D PRINTING SCAFFOLDS

N.Sadaba Larraona¹, M. Fernandez San Martin², I. Calafell Martinez², J.R.Sarasua Oiz¹, J.Muñoz Ugartemendia¹, E.Zuza Hernández¹.

¹ Department of Mining-Metallurgy Engineering and Materials Science Institute of Polymer Materials (POYMAT) University of the Basque country (UPV/EHU) faculty of Engineering Alameda de Urquijo s/n 48013 Bilbao (Spain)

² Department of Polymer Science and Technology and Institute of Polymer Materials (POLYMAT), Faculty of Chemistry, University of the Basque Country (UPV/EHU), Paseo Manuel de Lardizabal 3, 20018 Donostia-San Sebastián (Spain)

(email:naroa.sadaba@polymat.eu)

Abstract

The so called “Additive manufacturing” is a new manufacturing process which consists in translating virtual solid model data into physical models in a quick and easy process. The most known example is 3D printing. In the present work, this novel technology will be used to print scaffolds with biomaterials.

Due to the problems that arise when controlling the clinical course of an implant, graft or polymer inside the human body, an innovative idea has emerged: it consists in incorporating particles of barium sulfate in order to increase the radiopacity of the polylactide (PLLA) and thus making these materials visible to X-rays.

Accordingly, BaSO₄ loaded PLLA composites were prepared via melt-blending and then injected for further characterization by thermal transitions, mechanical properties, morphology and radiopacity. X-ray analyses confirmed the enhanced radiopacity of the BaSO₄ filled composites in comparison to their unfilled counterparts. It is demonstrated that the loads not only contribute to the material's radiopacity, but also dramatically improve its ductility. As an illustration, the incorporation of 10 wt.% of BaSO₄ particles resulted in an outstanding 1647% and 3338% increase in toughness and elongation of PLLA matrix, respectively. In view of the good properties of these materials, they will be used for 3D printing. Through this technique it can be molded with any shape in a matter of minutes, making the use of this technology appealing for further innovations.

1. Introduction

Tissue engineering emerged from the need to repair a tissue or organ failure due to damage or injury. This area of knowledge comprehends different fields, such as the Materials Engineering, the Biology and the Medicine. During the last decade the number of studies related to tissue engineering has significantly increased. Due to all these efforts, currently, many different tissues and organs such as vascular graft [1–3], skin graft [4–6] and bone [7–9] amongst others can be replaced, resulting in the improvement of the quality of life of the human being. It should be highlighted that the idea of combining materials engineering and biology began in 1960 with treatments for skin burns. The idea was to use a synthetic skin for burns victim like a symptomatic therapy. However, it was in 1980 when a great leap on this topic was performed [10].

Focusing on biomaterials, during the last decade the tissue engineering applications have moved forward to the use

of biodegradable and bioactive materials. One application for these materials can be the graft or bone implants. Unlike traditional metal implants, polymer implants have the advantage of enabling the regeneration of the tissue or the bone, and disappearing some time after the procedure through the absorption by the body. Therefore, in the last years the polymers and especially the biocompatible polymers have experienced a great increase in both research and practical applications. One of the most used polymers nowadays are the polyesters because of their great diversity. Amongst the most used polyesters for medical applications, it can be cited the polylactide (PLA) and their derivatives [11].

Despite all the advantages that these materials offer in comparison to others, their use has been limited so far, due to the fact that it is not possible to monitor the implant properly. In order to overcome this problem, it was decided to mix these polymers with radiopaque markers. As a consequence, the polymer becomes visible to the X-rays. It should be noted that X-ray visible substances are those with high atomic weight, such as barium sulphate (BaSO₄), bismuth salts, tantalum or tungsten.

Although alternative radiopaque markers have been proposed,[12-15] barium sulphate (BaSO₄) is currently the most commonly used in medical applications [16]. The addition of radiopaque markers like BaSO₄ to the polymer matrix is a method extensively used by surgeons for accurate placement and it also enables the surgeon to monitor any migration of the implant over time [17,18]. Several studies have investigated the effect of BaSO₄ on the mechanical properties of different polymers, such as polymethylmethacrylate [19-21], polypropylene [22], or polyurethane [23]. It has been demonstrated that a large amount of BaSO₄ (30-40 %) has a detrimental effect on both the static and fatigue strength of the bone cement[20]. Such formulations are used for spine reconstructive surgery, while bone cement used to fix joint prostheses contains between 9-13 % BaSO₄, being a value of 10% the most common percentage [24,25].

As mentioned before, these materials can be used for tissue regeneration. For that purpose, they will be converted and manufactured into 3D scaffolds. However,

3D printing is one of the most promising techniques. The additive manufacturing process, which has experimented a rapid growth during the last decade, is usually defined as the conversion of a computer aided design (CAD) model into a real model through a quick and easy process. The most widespread example of this technology is the 3D printing, which has been already implemented in various applications for the automotive and aerospace industries and also within the medical field. The use of this technology has gained a great importance in recent years, and different modes of printing have been developed specifically for this field. The different types of 3d printings depend on the mode in which the printing is performed. In the present work we carried out a 3D impression by deposition of the melted material (FDM) layer by layer.

Using this technique, practically any material can be printed. Moreover, it allows to control the geometry and the pore size of the scaffolds which are crucial parameters for promoting cell growth and differentiation.

The aim of the present study is to make scaffolds with radiopaque composite materials. In order to achieve this goal, a 3D-biploter printer is used. As this printer is based on the FDM technology, the thermal and rheological behaviour of the materials has been studied.

Once the scaffold is printed, the mechanical properties of the scaffold are studied. By adding radiopaque particles, the mechanical properties of these scaffolds are improved in comparison to the scaffolds of unfilled PLLA.

2. Experimental part

For appropriate use of the 3D printing it is necessary to study the rheological and thermal behavior of polymers. The parameters involved in the process of printing must be controlled in order to guarantee the correct performance of the printed product. Printing has to be performed within very strict ranges of temperature, printing rate and pressure; otherwise good printing will not be achieved: as a consequence a proper study of the basic properties of the material has been performed.

The first step to perform is the processing. The BaSO₄ particle sizes ranged from 0.75 to 1 μm. PLLA samples containing 10.0 wt.% of BaSO₄ were prepared by melt blending. Firstly, the composites were obtained using a Vertical DSM Xplore Model 5 mini-mixer. Subsequently, dumbbell-shaped samples were prepared by a mini-injection in a Micro Injection Moulding Machine 10cc, in order to obtain the mechanical properties of the material. Unfilled PLLA specimens, processed in the same conditions mentioned above, were used as a test control.

Once the material is processed, the thermal and rheological characterization of the material was performed. Thermal transitions of the samples were determined by means of differential scanning calorimetry on a DSC 2920 (TA instruments), and thermogravimetric analyzer (TGA Q50-0545, TA Instruments) under a nitrogen flux of 60 mL min⁻¹. Regarding the rheological properties, the dynamic viscoelasticity was analysed in order to determine the frequency and temperature limits

of the terminal zone, with the aid of an ARES-G2 rheometer (TA instruments).

Scanning Electron Microscope (SEM) and Transmission Electron Microscopy (TEM) were used to study the morphology and dispersion of the BaSO₄ particles in the composites.

Due to the fact that it is a radiopaque material, radiographs were taken to determine the RO of the polymer with a standard clinical machine. Five 1 mm thick specimens were irradiated with the X-radiographic standard clinical machine to get a radiograph. Subsequently, the relative RO was determined by comparing the RO exhibited by a PLLA sample containing 90 wt.% of BaSO₄ particles. The free image editing software ImageJ was used to measure the gray values of the BaSO₄ and the composites in the resulting image. The relative RO of the disc was calculated by using the equation (1):

$$RO = \left[\frac{G_c - G_b}{(0.90 \times G_{BaSO_4}) - G_b} \right] \times 100 \%$$

Where G_c, G_b, and G_{BaSO₄} are the gray values of PLLA/BaSO₄, background and BaSO₄ respectively, for the same specimen thickness.

Once all the characteristics of the material are known, the impression begins. After the printing, the scaffold was characterized thermally and mechanically.

3. Results

As a common practice in the composite materials field, the dispersion of the samples was analyzed. Figure 1 shows the dispersion of the composites by TEM. These images reveal individual particles of BaSO₄ randomly and homogeneously dispersed as a consequence of the fine dispersion in the PLLA matrix.

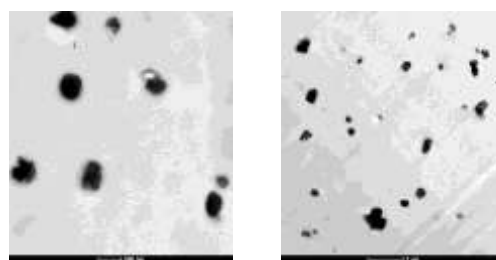


Figure 1. TEM microscopy images of PLLA/BaSO₄ composites containing 10 wt. % of BaSO₄.

With regard to the thermal properties, the presence of BaSO₄ in the composite did not promote the overall crystallinity of the PLLA, whose values stayed practically constant. In contrast, the thermal stability of the materials increased slightly when the loads were added.

Moreover, it was observed an outstanding improvement in the ductility of the material processed by injection. For instance, PLLA/BaSO₄ composites with 10 wt. % of BaSO₄ showed around 135 % of elongation at break. Against the fragility that PLLA has. PLLA has around 4% of elongation before failure.

BaSO ₄ (%)	E (MPa)	σ_r (MPa)	ϵ_r (%)	TT (J/m ³)
0	1315±119	45.3±9.4	3.9±0.3	3.6±0.2
10	1426±137	54.5±3.5	134.1±6.5	62.9±4.6

Table 1. Mechanical properties of neat PLLA and PLLA/ PLLA/BaSO₄ 10.0 wt. % of BaSO₄.

Table 1 shows the mechanical properties of neat PLLA and PLLA/BaSO₄ composites containing 10.0 wt. % of BaSO₄. An increase in the amount of BaSO₄ within the composite leads to better monotonic mechanical properties. This fact is of paramount importance regarding the ductility parameters such as the elongation at break, being obtained an increase of 3338 % (from 3.9±0.3 to 134.1±6.5) when comparing neat PLLA and PLLA/BaSO₄ composite with 10 wt. % BaSO₄. For this case, the monotonic strength parameters such as the ultimate tensile strength increase moderately, roughly 20.5% (from 45.3±9.4 MPa to 54.5±3.5 MPa). Regarding the tensile modulus, an increase of 8% (from 1315±119 to 1426±137 MPa) was observed.

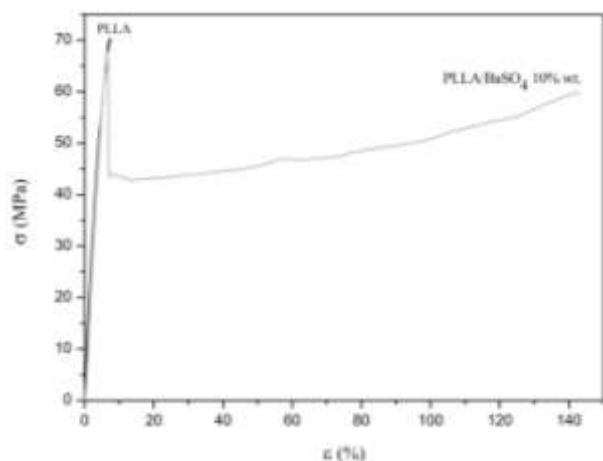


Figure 2. Tensile stress-strain behavior of a) neat PLLA, and PLLA/BaSO₄ composites with b) 10.0 wt. % of BaSO₄

In the Figure 2 the monotonic stress-strain curves of neat PLLA and PLLA/BaSO₄ composite are shown together. As it can be observed, the PLLA alone shows the typical behavior of brittle materials, with the final rupture at the end of the elastic deformation, showing no plasticity at all. However, the PLLA/BaSO₄ composite with 10 wt. % BaSO₄ shows a dramatically different behavior, that of a plastic material, with a much higher plastic zone. As a consequence, the tensile toughness, that is, the energy stored per unit volume within the material in the moment of the final rupture, can be mathematically interpreted in terms of the area below the stress-strain curve. The tensile toughness increased by 1647 % from 3.6±0.2 J/m³ for neat PLLA to 62.9±4.6 J/m³ for PLLA/BaSO₄ composites with 10 wt. % of BaSO₄. These results explain the modest increase in terms of strength parameters, and the outstanding enhancement of the ductility parameters

By the addition of BaSO₄ to the PLLA matrix, an increase in radiopacity could be observed. As it has been commented previously, the BaSO₄ content to fix prostheses is between the range 9-13 %. Figure 3 shows X-radiographies of neat PLLA and PLLA/BaSO₄ composite with 10 wt. % of BaSO₄. The analysis of the images calculated by eq. 1 showed an increase of 15 % in RO.

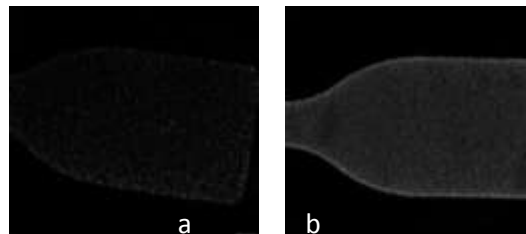


Figure 3. Radiopacity of a) neat PLLA and b) PLLA/BaSO₄ composites with 10.0 wt. % of BaSO₄.

The viscosity of the material is a critical criterion for 3D printing as it determines the feasibility of the impression (the maximum viscosity that the machine admit was 10⁵ Pa s). Thus, the viscosity of the composite was determined via rheology measurements. As expected its viscosity was higher than PLLA alone, but still in the range for impression

As the properties of the material are suitable for the impression, it begins with the construction of scaffolds. As shown in Figure 4, these can be obtained by this method of processing materials.



Figure 4. Scaffold of PLLA/BaSO₄ manufactured by 3D printing

4. Conclusions

Poly lactide/barium sulphate composite system, that has good properties obtained in solid state (i. e. injected pieces or sheets obtained by compression molding) could be 3D printed.

Due to the radiopacity and the great toughness of this material, a broad range of possibilities of applying this composite as fixation devices or bone reconstruction in the biomedical field should be considered for future studies.

Acknowledgments

Authors are thankful for funds of Basque Government (GV/EJ) Department of Education (IT-927-16) and from MINECO (MAT 2016-78527-P). N. Sadaba is thankful

for the predoctoral fellowship to POLYMAT Fundazioa-Basque Center for Macromolecular Design and Engineering.

References

- [1] "Access : Tissue Engineering : Nature Biotechnology." Accessed August 29, 2017. http://www.nature.com/nbt/journal/v18/n10s/full/nbt1000_IT56.html?foxtrotcallback=true.
- [2] Alba, A, Boullay, O.T. du, Martin-Vaca, B., and Bourissou and Didier Bourissou. "Direct Ring-Opening of Lactide with Amines: Application to the Organo-Catalyzed Preparation of Amide End-Capped PLA and to the Removal of Residual Lactide from PLA Samples" 6, no. 6 (January 27, 2015): 989–97. doi:10.1039/C4PY00973H.
- [3] Bhowmick, S., Rother, S., Zimmermann, H., Lee, P.S., Moeller, S., Schnabelrauch, M., Koul, V., Jordan, R., Hintze, V., and Scharnweber, D. "Biomimetic Electrospun Scaffolds from Main Extracellular Matrix Components for Skin Tissue Engineering Application – The Role of Chondroitin Sulfate and Sulfated Hyaluronan." *Materials Science and Engineering: C* 79 (October 1, 2017): 15–22. doi:10.1016/j.msec.2017.05.005.
- [4] Castro-Aguirre, E., Iñiguez-Franco, F., Samsudin, H., Fang, X., and Auras, R. "Poly(lactic acid)—Mass Production, Processing, Industrial Applications, and End of Life." *Advanced Drug Delivery Reviews, PLA biodegradable polymers*, 107 (December 15, 2016): 333–66. doi:10.1016/j.addr.2016.03.010.
- [5] Cheng, L., Sun, X., Zhao, X., Wang, L., Yu, J., Pan, G., Li, B., Yang, H., Zhang, Y., and Cui, W. "Surface Biofunctional Drug-Loaded Electrospun Fibrous Scaffolds for Comprehensive Repairing Hypertrophic Scars." *Biomaterials* 83 (March 1, 2016): 169–81. doi:10.1016/j.biomaterials.2016.01.002.
- [6] Drumright, R.E., Gruber, P.R., and Henton, D.E. "Polylactic Acid Technology." *Advanced Materials* 12, no. 23 (December 1, 2000): 1841–46. doi:10.1002/1521-4095(200012).
- [7] Esmailzadeh, J., Hesaraki, S., Hadavi, S.M.-M., Ebrahimzadeh, M.H., and Esfandeh, M. "Poly (D / L) Lactide/Polycaprolactone/Bioactive Glass Nanocomposites Materials for Anterior Cruciate Ligament Reconstruction Screws: The Effect of Glass Surface Functionalization on Mechanical Properties and Cell Behaviors." *Materials Science and Engineering: C* 77 (August 2017): 978–89. doi:10.1016/j.msec.2017.03.134.
- [8] Faure, E., Falentin-Daudré, C., Jérôme, C., Lyskawa, J., Fournier, D., Woisel, P., and Detrembleur, C. "Catechols as Versatile Platforms in Polymer Chemistry." *Progress in Polymer Science, Topical Issue on Polymer Chemistry*, 38, no.1 (Enero 2013): 236–70. doi:10.1016/j.progpolymsci.2012.06.004.
- [9] Ganjalinia, A., Akbari, S., and Solouk, A. "PLLA Scaffolds Surface-Engineered via Poly (Propylene Imine) Dendrimers for Improvement on Its Biocompatibility/Controlled pH Biodegradability." *Applied Surface Science* 394 (February 1, 2017): 446–56. doi:10.1016/j.apsusc.2016.10.110.
- [10] Khakestani, M., Jafari, S.H., Zahedi, P., Bagheri, R., and Hajiaghache, R. "Physical, Morphological, and Biological Studies on PLA/nHA Composite Nanofibrous Webs Containing Equisetum Arvense Herbal Extract for Bone Tissue Engineering." *Journal of Applied Polymer Science* 134, no. 39 (October 15, 2017): n/a-n/a. doi:10.1002/app.45343.
- [11] Komae, H., Sekine, H., Dobashi, I., Matsuura, K., Ono, M., Okano, T., and Shimizu, T. (2017). Three-dimensional functional human myocardial tissues fabricated from induced pluripotent stem cells. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* 11, 926–935.
- [12] E. Kusyak, M. Zaborski. *From Composite Interfaces* 2012, 19(7), 433-439.
- [13] A.C. Ruddy, G.M. McNally. *From Annual Technical Conference-Society of Plastics Engineers*, 632005, 3078-3082
- [14] J.L. Pariente, L. Bordenave, R. Bareille, C. Ohayon-Courtes, Ch. Baquey, M. Le Guillou. *Biomaterials* 1999 ,20(6),523-527.
- [15] M.A. Hungaro Duarte; P.G. Minotti; C.T. Rodrigues; R.O. Zapata; C.M. Bramante; F.M. Tanomaru; R.R. Vivan; I. Gomes de Moraes; F. Bombarda de Andrade. *J. of endodontics* 2012, 38(3),394-7.
- [16] Matthew J. Meagher, B. Leone, T. L. Turnbull, R. D. Ross, Z. Zhang, Ryan K Roeder. *J. of Nanoparticle Research* 2013, 15, (12), 2146/1-2146/10.
- [17] J. Karrholm, G. Garellick, C. Rogmark, P. Herberts. 2008. The Swedish National hip arthroplasty register. Annual report 2007. Sahlgrenska University Hospital Gothenburg, Sweden.
- [18] A.Ricker, P. Liu-Snyder, T. Webster. *J. Int. J. Nanomed.* 2008, 3,125-132.
- [19] M. Baleani, M. Viceconti. *Fatigue and Fracture of Eng. Mat. and Struc.* 2010, 34, 374-382.
- [20] S.M. Kurtz, M.L. Villarraga, K. Zhao, A.A. Edidin. *Biomaterials* 2005,26, 3699-3712.
- [21] S. Dawlee, A. Jayakrishnan, M. Jayabalan. *J. Mat. Sci: Mat. Med.* 2009, 20, S243-S250.
- [22] A.A. Abd El-Hakim, A.S. Badran, H.A. Essawy. *J. of Elastomers and Plastics* 2004,36, 298-306.
- [23] N.R. James, J. Philip, A. Jayakrishnan. *Biomaterials* 2006, 27, 160.
- [24] K.D. Kuhn. (2000) *Bone Cements. Up-to-Date Comparison of Physical and Chemical Properties of Commercial Materials.* Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- [25] K.D. Kuehn, W. Ege, U. Gopp. 2005 *Acrylic bone cements: mechanical and physical properties.* *Orthop. Clin. North Am.* 36, 29–39.
- [26] *Additive Manufacturing Technologies* I.Gibson, D.Rosen and B.Stucker, Springer Science, New York 2015

Biosensores basados en tecnologías de fibra óptica recubierta con materiales nanoestructurados

A.B. Socorro-Leránoz^{1,2,*}, I. Del Villar^{1,2}, C. Elosúa^{1,2}, P. Zubiate¹, J.M. Corres^{1,2}, C. Bariáin^{1,2}, J. Goicoechea^{1,2}, S. Díaz^{1,2}, C.R. Zamarreño^{1,2}, M. Hernández⁴, P.J. Rivero^{1,3}, A. Urrutia^{1,2}, P. Sánchez-Zabal¹, N. De Acha¹, J. Ascorbe¹, D. López¹, A. Ozcáriz¹, L. Ruete^{1,5}, F.J. Arregui^{1,2}, I.R. Matías^{1,2}

¹ Departamento de Ingeniería Eléctrica y Electrónica, Edificio de Los Tejos**

² Institute of Smart Cities (ISC) - ³ Institute for Advanced Materials (INAMAT), Edificio Jerónimo de Ayanz**

⁴ School of Chemistry, University of East Anglia, Norwich Research Park, NR4 7 TJ, Norwich, Reino Unido (UK)

⁵ Eversens S.L., Centro Europeo de Empresas e Innovación de Navarra, Calle Mocholí, 31110, Noáin, Navarra, España

**Universidad Pública de Navarra (UPNA), Campus de Arrosadía s/n, C.P. 31006, Pamplona, Navarra, España

*e-mail: ab.socorro@unavarra.es

Resumen

En la actualidad, tanto los gobiernos como las empresas apuestan por la prevención antes que la cura, con el objetivo de ahorrar sobrecostes en materia de salud. Es por ello que existe la necesidad de desarrollar dispositivos que consigan un diagnóstico precoz de las enfermedades. Una manera muy eficiente de abordarlo es mediante el diseño de biosensores. A día de hoy existe una gran variedad de tecnologías que pueden realizar este trabajo. Esta contribución revisa los avances realizados usando la tecnología de fibra óptica, que últimamente acapara mucho del interés científico relacionado con el desarrollo de biosensores. Las buenas características que permiten a la fibra óptica adaptarse al mundo del biosensado han hecho que la comunidad científica profundice en esta tecnología, obteniendo resultados que pueden presentar una potencial alternativa a los actuales dispositivos comerciales. Esta contribución analiza estas bonanzas, así como las diferentes posibilidades que existen a la hora de usar la fibra óptica como plataforma biosensora.

1. El mercado de los biosensores

Según un informe de P&S Market Research realizado en 2015 [1], el mercado de los biosensores alcanzará los 22,490 millones de dólares en 2020. Las principales causas que motivarán esta situación serán el aumento de la diabetes y envejecimiento de la población, algo que ya comienza a visualizarse en los países con mayor potencial de desarrollo. Detrás de este mercado se situarán empresas cruciales en el sector de las tecnologías para la salud, como son Siemens Healthcare, Abbott, J&J, Medtronic, Hoffmann La Roche o Bayer. Dichas empresas, además, en colaboración con las administraciones estatales, centrarán sus esfuerzos económicos en el desarrollo de aplicaciones que permitan a los pacientes gestionar su propia salud en el hogar, así como mejorar la atención primaria en los centros de salud. Es decir, que se va a tratar de potenciar la prevención frente a la cura. Los biosensores permiten esta labor, ya que precisamente son dispositivos diseñados para detectar a tiempo o con cierta antelación una determinada malfunción.

Un biosensor puede definirse un dispositivo que detecta una sustancia química o bioquímica en base a la transducción de una interacción biológica en una variación de una variable inteligible. La estructura de la cabeza sensora en estos dispositivos consta de 3 partes bien diferenciadas y que se muestran en la Figura 1 [2]: el sustrato, la interfase de biofuncionalización y la capa de bioreceptores.

Los bioreceptores son, generalmente, anticuerpos, enzimas, proteínas, aptámeros o cualquier biomolécula específicamente diseñada para detectar otras moléculas diana, llamadas “analitos”. El sustrato es la tecnología que permite transducir estas interacciones biológicas en variables inteligibles, y puede ser óptico, eléctrico o acústico, entre otros. Finalmente, la interfase de biofuncionalización es la capa intermedia, que sirve de anclaje de los bioreceptores al sustrato. Las razones por las que escoger los materiales o las sustancias implicadas deben estar cuidadosamente seleccionadas, hasta tal punto que el diseño de biosensores se ha convertido en una ciencia que viene dando resultados desde 1955.

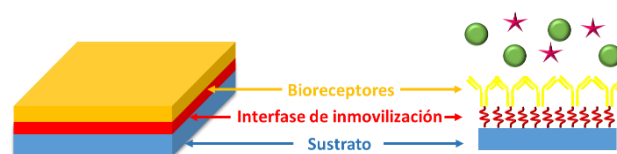


Figura 1. Esquema de un biosensor. A la derecha se distinguen los bioreceptores (amarillos), los analitos (verdes) y otras sustancias presentes en la detección (fucsia).

Como se ha mencionado, existen numerosas técnicas de desarrollo de biosensores, como pueden ser los basados en micro(opto)electromecánica (MEMS/MOEMS) [3], electroquímica [4] u óptica [5]. Los primeros basan su detección en vibraciones mecánicas de barras en voladizo de tamaño micrométrico o nanométrico (NEMS) ante una interacción más o menos notable entre las moléculas detectora y diana. Sin embargo, si bien son una tecnología con alto potencial de desarrollo dada la posibilidad de producción en masa, aún se trata de dispositivos con un

alto coste de producción y que están en fase de investigación. No ocurre lo mismo con los biosensores electroquímicos, ya que hoy en día son los únicos capaces de competir con garantías de éxito en este mercado.

Por su parte, el campo de los sensores ópticos o fotónicos está experimentando en los últimos años un auge espectacular. De acuerdo con un informe de la empresa Allied Market Research [6], el mercado de los sensores fotónicos crecerá durante el período 2014-2020 un 16.9% al año hasta alcanzar los 15,2 billones de dólares en 2020. En este sentido, son muchas las configuraciones ópticas que tratan de explotar sus ventajas respecto a las que ofrecen otro tipo de tecnologías. Dentro del ámbito de los biosensores ópticos destacan aquellos cuya base es un sustrato fotónico [5] y sensores basados en fibra óptica [7], sobre los que versa esta contribución.

2. La fibra óptica como sustrato biosensor

2.1. Funcionamiento y configuraciones de detección

La fibra óptica es una guía de ondas, generalmente hecha de vidrio, que transmite luz a diferentes longitudes de onda dentro del rango de las comunicaciones ópticas, aproximadamente entre los 350 y los 2000 nm. Se compone de dos partes principales: el núcleo y la cubierta. La cubierta presenta un índice de refracción (n) ligeramente inferior al del núcleo. Aplicando la teoría de rayos, esto permite guiar la luz mediante el fenómeno de reflexión total interna (RTI). Pese a ello, estas reflexiones siempre dejan una cierta cantidad de energía que se acopla y propaga por parte de la cubierta. Es lo que se denomina como “campo evanescente” (ver Figura 2). En este sentido, es posible usar la interacción, bien con la luz del núcleo o bien con el campo evanescente, para llevar a cabo la detección de las moléculas diana. Todo depende del tipo de fibra usado, de los químicos empleados para construir el sensor sobre ella y de la arquitectura de detección empleada [8].

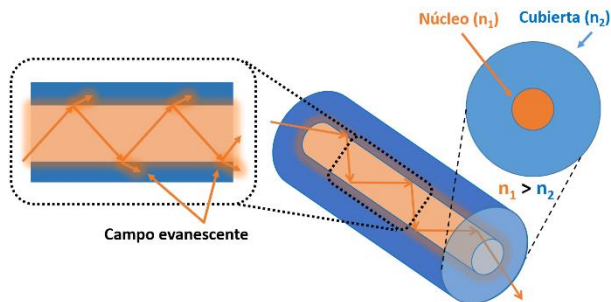


Figura 2. Propagación de la luz en una fibra óptica. A la vez que la luz se propaga por RTI, parte de la energía de la luz se acopla a la cubierta debido al campo evanescente. n_i es el índice de refracción del material i .

Así, dependiendo de las prestaciones de las que desee dotar al sensor, se consideran dos tipos de configuraciones: transmisión y reflexión. Los sensores en reflexión, cuya configuración se describe en la Figura 3a, permiten una mayor manejabilidad, y pueden dar lugar a un dispositivo más pequeño. Tan sólo necesitan un bifurcador óptico, para poder enviar la luz que se recibe

desde la punta de la fibra óptica y que no interfiera con la luz de entrada. Son mecánicamente robustos y fáciles de manipular, aunque debido a las pérdidas que se generan por la reflexión tiene mayores dificultades para operar con bajos niveles de señal.

Por el contrario, para los sensores de transmisión, cuya configuración se esquematiza en la Figura 3b, hay una trayectoria óptica directa entre la fuente de luz y el receptor. Esto hace que las pérdidas ópticas sean inferiores en comparación con la configuración en reflexión. Sin embargo, tiene la desventaja de que los montajes pueden resultar aparatosos, ya que a veces es necesario unir la guía de onda a un soporte para evitar su rotura. La elección entre una configuración u otra se basa en aspectos como los requisitos finales de aplicación, el principio de transducción o el material de detección.

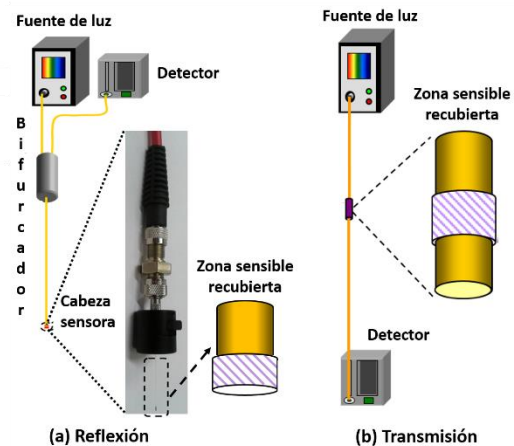


Figura 3. Configuraciones de detección usando fibra óptica.

2.2. Adecuación de la fibra óptica como sustrato biosensor

La fibra óptica es una plataforma muy adecuada para desarrollar biosensores debido a una serie de propiedades que la permiten usarse como tal, como son su inmunidad frente a interferencias electromagnéticas, su biocompatibilidad y su reducido tamaño y peso. Además, se puede usar para detectar magnitudes como temperatura, presión, tensión y, en general, variables que supongan una modificación del estado original de la guía de onda [9].

Sin embargo, si se quiere ampliar el espectro de aplicaciones que se desean abordar al ámbito químico o bioquímico, es necesario modificar estas estructuras ópticas, empleando técnicas de deposición de películas ópticas, empleando técnicas de deposición de películas delgadas o nanorecubrimientos [10]. La reacción de los materiales depositados con la luz que se propaga a lo largo de la fibra óptica, bien a través del núcleo o bien acoplándose al campo evanescente, potencia sus prestaciones y determinan el comportamiento del dispositivo final. Así, es posible encontrar biosensores de fibra óptica basados en 4 fenómenos ópticos principales: absorción [11], luminiscencia [12], interferometría [13] y resonancias electromagnéticas [14]. La siguiente sección revisará estas tecnologías, a fin de tener un panorama más claro sobre el estado del arte de los biosensores basados en tecnologías de fibra óptica.

3. Detección de biomoléculas basada en fenómenos generados sobre fibra óptica

El fenómeno de absorción se basa en los cambios de las propiedades ópticas del material detector depositado sobre la fibra óptica. La iluminación desde la fuente alcanza la superficie en contacto con el material y este varía su capacidad de absorción en función del cambio con respecto al hecho de detectar las moléculas diana. En la referencia [11], la detección de absorción se basa en la detección de un producto de reacción cromóforo. En concreto, si una enzima como la fosfatasa alcalina se deposita en la punta de una fibra óptica, entonces es posible detectar p-nitrofenilfosfato. La enzima actúa como biocatalizador y genera p-nitrofenol, un producto que presenta una fuerte absorción en la longitud de onda de 404 nm. Esta absorción es indicativa de la presencia y actividad de dicha enzima.

Por otro lado, hay materiales que pueden ser excitados a longitudes de onda cortas (alta energía) y, cuando vuelven a su estado natural, emiten luz a longitudes de onda largas (baja energía), produciendo el fenómeno conocido como “luminiscencia”. Además, estos mismos materiales potencian o atenúan su luminiscencia en función de la presencia de la biomolécula a detectar. Aquí, la fibra óptica puede guiar la señal de excitación hacia la matriz de soporte recubierta con el compuesto luminiscente, así como acoplar la emisión. La configuración habitual en estos casos es en reflexión. Esto se puede ver en [12], donde se plantea la detección de oxígeno en base a un tipo de porfirina de platino, que ha demostrado ser un compuesto proporcionalmente fluorescente con la concentración de este gas. La contribución presenta el sensado de una atmósfera saturada en oxígeno entre 0 y 100%, con incrementos del 5%.

Las contribuciones anteriores basan su detección en la monitorización de la intensidad de la señal detectada. Otro tipo de sensores permiten la detección en longitud de onda. Para ello se monitoriza la evolución de fenómenos interferométricos o resonantes, generados, bien por la estructura óptica o bien por el hecho de recubrirla. En el caso de los interferómetros, el principio de funcionamiento se basa en la combinación de, al menos, dos señales. Una de ellas es la señal original. La otra es una señal interferente que ha sido alterada de alguna manera para detectar el analito deseado. Así, cuando se recombinan en la etapa de detección, el patrón interferométrico varía, obteniendo los cambios deseados en longitud de onda.

Este es el principio de funcionamiento del sensor de interacciones IgG - anti-IgG presentado en [13]. En este caso, la interferometría se consigue fusionando dos fibras con un núcleo de 8 μm con un segmento de fibra sin núcleo, como se observa en la Figura 4. La luz obtenida en el espectrómetro es la resultante de sumar la luz propagada dentro de la fibra con núcleo con las interferencias correspondientes a las reflexiones de los rayos en el segmento de fibra sin núcleo. En esta contribución, además, se realiza una reducción del diámetro de la estructura sensora, mediante un ataque

químico con el que se incrementa su campo evanescente y su sensibilidad. Esto puede aprovecharse para visualizar la interacción entre los anticuerpos primarios y secundarios. En el trabajo se obtiene una sensibilidad ocho veces superior a los valores alcanzados con la estructura original y se detectan IgGs en concentraciones de hasta 104 $\mu\text{g/ml}$. Además, se utilizan técnicas de proteómica, como la espectrometría de masas de alta resolución, para corroborar la unión de las biomoléculas a la fibra óptica, y se comprueba que el sensor no presenta sensibilidad cruzada a otras biomoléculas inmersas en la misma disolución de detección.

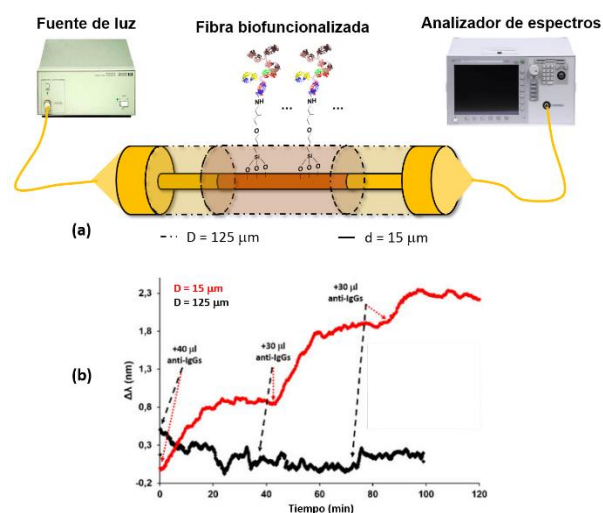


Figura 4. (a) Esquema de la configuración usada en [13] para diseñar el biosensor. Se observa la biofuncionalización para adherir los anticuerpos primarios (IgGs). (b) Detección de anticuerpos secundarios (anti-IgGs), comparando fibras de control y optimizada. Reproducida y ligeramente modificada con permiso de IEEE Xplore®.

Finalmente, se analizan los biosensores de fibra óptica basados en resonancias electromagnéticas. Como ya se ha mencionado, cuando a una fibra óptica se le retira la cubierta que permite la reflexión total interna, da la posibilidad de acceder su campo evanescente. Si sobre esta fibra se deposita una película delgada, puede existir un acoplamiento de luz a la película delgada en un cierto rango de longitudes de onda. Estas longitudes de onda aparecen fuertemente atenuadas en el detector, obteniendo así los fenómenos de resonancia electromagnética.

Dependiendo de las propiedades dieléctricas de los actores involucrados en el sistema (guía-onda, revestimiento y medio externo), se pueden distinguir tres casos de resonancias electromagnéticas: excitaciones superficiales de amplio rango (ESARs) [14], resonancias de plasmón superficial (RPSs) y resonancias de modos de pérdidas (RMPs) [15]. A modo de ejemplo, esta contribución se referirá únicamente al último tipo, analizando una reciente contribución en la que se realiza una detección de la proteína C-reactiva, un marcador del ictus [16]. En ella, se utiliza un tipo de fibra óptica llamada de “tipo D”, en referencia a la forma de su sección transversal. Dicho tipo de fibra es muy adecuado para generar RMPs puesto que el núcleo está muy cercano a la superficie, con lo que el campo evanescente

disponible es muy alto. Sobre ella se depositan una serie de materiales para generar RMPs y, sobre estos, otros que sirven de acomodamiento para los bioreceptores, que en este caso son aptámeros específicamente diseñados para detectar la presencia de proteína C-reactiva. Como datos relevantes, la mínima concentración discernible detectada por este biosensor es 62,5 $\mu\text{g/L}$ (ver Figura 5) y con bastante selectividad frente a otras sustancias biológicas como son la creatinina o la urea.

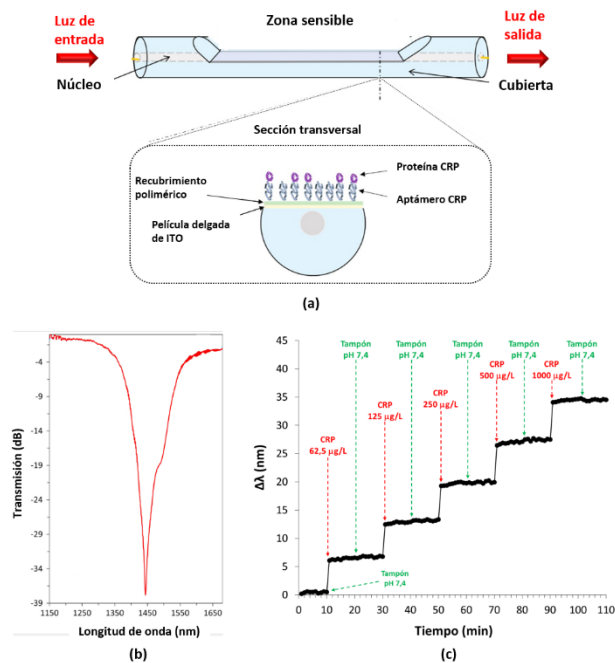


Figura 5. (a) Biofuncionalización de la estructura óptica usada en [16]. (b) RMP obtenida tras la biofuncionalización (c) Detección de proteína C-reactiva.

4. Conclusiones

El diseño de biosensores implica una optimización de todos los pasos que se dan, desde la elección de la plataforma sensora a los bioreceptores adecuados, pasando por la manera en la que estos se unen al sustrato. En esta contribución se ha presentado una revisión de las diferentes estrategias que existen a la hora de abordar el diseño de biosensores desde el punto de vista óptico y, más concretamente, teniendo en cuenta la fibra óptica como sustrato sobre el cual diseñar este tipo de sensores.

Según se ha visto, existen 4 tipos principales de fenómenos ópticos entre los que elegir a la hora de diseñar estos biosensores: absorción, luminiscencia, interferometría y resonancias electromagnéticas. Todos ellos se basan en principios diferentes pero complementarios, lo cual es interesante tener en cuenta dependiendo de los requerimientos de la aplicación.

De cara a futuras investigaciones con este tipo de tecnología, se está tratando de optimizar estos sensores en términos de aumento de sensibilidad y mejora de la resolución de las medidas. Las magnitudes biomédicas poseen un rango muy limitado de variación y los pacientes pueden requerir tratamientos muy diferentes según su situación. Es por ello que, con vistas a la aplicación clínica, conseguir este objetivo es crucial.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Nadetech Innovations S.L. y al centro CEMITEC su colaboración durante los últimos años.

Este trabajo está financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad a través de la Agencia Estatal de Investigación (AEI) gracias al proyecto FEDER TEC2016-78047-R, así como con los proyectos con referencias 72/2015, PC023-024 y 0011-1365-2017-000117 del Gobierno de Navarra.

Referencias

- [1] P&S Market Research: "Global Biosensors Market Size, Share, Development, Growth and Demand Forecast to 2022 – Industry Insights by Technology (...), by Application (...), by End User (...)" (2015).
- [2] X. Wang, O.S. Wolfbeis, "Fiber-Optic Chemical Sensors and Biosensors", *Analytical Chemistry* 2016 88 (1), pp. 203-227.
- [3] M. Alvarez, L. Lechuga, "Microcantilever-based platforms as biosensing tools", *Analyst* 2010, 135, pp. 827-836.
- [4] A. Weltin, J. Kieninger, G.A. Urban, "Microfabricated, amperometric, enzyme-based biosensors for in vivo applications", *Anal Bioanal Chem.* 2016, 408, pp. 4503-4521.
- [5] R. Hawk, A.M. Armani, "Label-free detection of 5-hydroxymethylcytosine within CpG islands using optical sensors", *Biosensors & Bioelectronics* 2015, 65, pp. 198-203.
- [6] World Photonics Sensors Market - Opportunities and Forecasts, 2013 – 2020, Report Code: SE 15602, 165 pages, Allied Market Research, (2015).
- [7] N. Cennamo, G. Testa, S. Marchetti, L. De Maria, R. Bernini, L. Zeni, M. Pesavento, Intensity-based plastic optical fiber sensor with molecularly imprinted polymer sensitive layer, *Sensors & Actuators B: Chemical* 2017, 241, 31, pp. 534-540.
- [8] C.R. Zamarreño, A.B. Socorro, P. Sanchez-Zabal, F.J. Arregui, I.R. Matias, "Fiber-optic biosensors" *Encyc. of Opt. and Phot. Engineering*, Ed. 2, Chapter: Vol. 4, 2, Publisher: CRC Press, Editors: Taylor & Francis, pp.19.
- [9] K. Grattan, T. Sun, "Optical-Fiber Sensors: Temperature and Pressure Sensors". *MRS Bulletin*, 27(5), pp. 389-395. doi:10.1557/mrs2002.124 (2002).
- [10] P.J. Rivero, A. Urrutia, J. Goicoechea, F.J. Arregui, "Nanomaterials for Functional Textiles and Fibers", *Nanoscale Research Letters* 2015, 10 (1), 501, pp. 1-22.
- [11] M.A. Arnold, "Enzyme-based fiber optic sensor". *Anal. Chem.* 1985, 57, pp. 565-566.
- [12] C. Elosua, N. De Acha, M. Hernaez, I.R. Matias, F.J. Arregui, "Layer-by-Layer assembly of a water-insoluble platinum complex for optical fiber oxygen sensors", *Sensors and Actuators B* 2015, 207, pp. 683-689.
- [13] A. Socorro, E. Santamaría, J. Fernandez-Irigoyen, I. Del Villar, J. Corres, F.J. Arregui, I.R. Matias, "Fiber-Optic Immunosensor Based on an Etched SMS Structure", *IEEE J. Sel. Topics in Quantum Electronics* 2017, 23, 2, Art. ID 5601808, 8 pp.
- [14] Y. Zhang, Tesis doctoral: "Long range surface polaritons in thin layers of absorbing materials", ISBN: 978-90-77209-52-3.
- [15] I. Del Villar, C.R. Zamarreño, M. Hernaez, F.J. Arregui, I.R. Matias, "Lossy Mode Resonance Generation With Indium-Tin-Oxide-Coated Optical Fibers for Sensing Applications", *Journal of Lightwave Technology* 2010, 28 (1), pp. 111-117.
- [16] P. Zubiate, C.R. Zamarreño, P. Sanchez-Zabal, I.R. Matias, F.J. Arregui, "High sensitive and selective C-reactive protein detection by means of lossy mode resonance based optical fiber devices", *Bios. & Bioelectronics*, 2017, 93, pp. 176-181.

Characterization of Copper Oxide Nanofluids in medical applications: Cases of Hospital Infections

L. Soares¹, E. Nogueira^{1,2}, L. Coelho^{1,3}, F. Coelho^{1,2}, S. Reis^{1,2}

¹ Physics Department, Instituto Superior de Engenharia do Porto, Portugal, {1160296, emn, lfc, mgc, lfc}@isep.ipp.pt

² CIETI, Instituto Superior de Engenharia do Porto, Portugal

³ INEGI - Laboratory of optics and experimental mechanics, Portugal

Abstract

Health acquired infections (IACs) is a major public health problem that cause an alarming number of victims in worldwide. Copper oxide (CuO) nanoparticles have several properties, such as their strong antimicrobial potential. CuO nanofluids were prepared and applied in an Escherichia coli culture to evaluate their antibacterial potential. The effect of increasing the temperature and concentration of the nanofluids on their electrical conductivity and their pH was also evaluated, showing that the increase in temperature and the increase of the nanoparticles in volume, promote the increase of the electrical conductivity of the nanofluids. It has been found that the temperature makes the nanofluids quite reactive, which is reflected in the inconstancy of their pH value. As for the microbiological test performed, it was not possible to prove the antibacterial potential of CuO nanofluids. The same happened with the hospital disinfectant used, which may suggest that the microbiological test used was not the most adequate.

1. Introduction

IACs are one of the major causes of morbidity and mortality worldwide. Besides of the various complications they bring to patients, IACs are also synonymous of a direct increase in the cost of medical care, as well as in the spread of multiresistant microorganisms (source of dissemination of infections) [1-4]. In a European context, a 2005 study concluded that IACs affects about 1 in 10 inpatients and causes around 5.000 deaths per year [5]. According to the Directorate General of Health in Portugal, the number of deaths associated with IACs (2013) reached 4.606, that is, more than 12 cases per day and seven times more than the number of deaths due to road accidents. Projections from the same entity indicate that by 2050 some 390.000 people in Europe and 10 million on the planet will die victims of this public health problem [6].

There are other pathogenic organisms responsible for IACs, however, bacteria, such as *Escherichia coli*, are the organisms with the greatest capacity for survival in dry hospital surfaces for long periods. These bacteria have the ability to create biofilms, that is, extremely organized colonies, even under conditions of nutrient deficiency [7, 8]. In the reducing of environmental burden of these microorganisms, traditional methods, such as daily cleaning of hospital surfaces, using disinfectants, and improved cleaning and self-cleaning systems are used [8-11]. However, even after successive cleanings, the elimination of pathogenic organisms doesn't occur effectively [8]. The use of disinfectants is a regular practice in all health units that requires strict guidelines due to the

chemical composition of disinfectants, which includes toxic substances capable of causing sensitization and irritation of the skin and mucous membranes, but also damage of materials surfaces [12, 13].

In this context, new solutions, promoters of IACs reduction, have been developed, namely the application of CuO nanofluids on hospital surfaces. Due to the antimicrobial potential of copper oxide and the fact that it doesn't present danger to humans when used in low amounts (skin sensitization and irritation), it is thought that the creation of antimicrobial solutions from CuO nanofluids for disinfection of surfaces will be a strategy that will offer a theoretical advantage to conventional cleaning with disinfectants [8, 14].

2. Materials and methods

The nanofluid samples were prepared by the application of CuO nanoparticles in ethylene glycol base fluid.

2.1. CuO nanoparticles

The nanoparticles used (99.9% of purity and 6.4g/cm³ of density), provided by mkNANO[®], were in the form of black powder of nanometer size, 70nm of diameter.

2.2. Ethylene glycol

The base fluid used was ethylene glycol, with a density of 1.108-1.118g/cm³ at 20°C.

2.3. Preparation of samples

The samples of CuO nanofluids were prepared using an ultrasonic homogenizer. To the flask was added the base fluid and then, gradually, the nanoparticles. The samples were maintained at 25-30°C. The homogenization time chosen, a preponderant factor for the stability of nanofluids, was determined after the experimental tests, since few authors refer to the existence of an optimal time of homogenization. A study refers that the homogenization time can reach up to 30 hours, but for CuO nanoparticles in ethylene glycol the optimum time should be 9 hours [15].

2.4. Measurement of electrical conductivity

Electrical conductivity is the least investigated thermophysical characteristic of nanofluids [16-18].

To evaluate the effect of increasing the volume percentage of nanoparticles and the effect of temperature increase on the electrical conductivity of CuO nanofluids, samples with 0.20%, 0.40%, 0.60%, 0.80% and 1.00% of

nanoparticles in base fluid volume were prepared. Each sample was subjected to a thermostatic bath, with temperature increments of 5°C. Measures are performed at 30°C, 35°C, 40°C, 45°C and 50°C.

2.5. pH measurement

There are authors who defend the existence of an optimum pH for which the nanofluid stability is maximum, as well as its thermal conductivity [19]. In this context, similar to the electrical conductivity measurements realized, pH measurements were performed for the same conditions.

2.6. Evaluation of antibacterial potential

The microbiological test used to compare the antibacterial efficacy of a commercially available hospital disinfectant and CuO nanofluids was performed using a bacterial strain of *Escherichia coli*, whose growth was conducted in culture media composed of Plate Count Agar contained in Petri dishes and incubated at a constant temperature of 36°C for 24 hours. In the preparation of the microbiological test, 60µL of bacteria were added to all Petri dishes. The control used was acetic acid, an inhibitor of *Escherichia coli*. The following table allows to systematize the test performed.

Control (2 replicas)	Disinfectant (2 replicas)	Nanofluid (2 replicas)
CuO nanofluid (10µL) ¹ + Acetic Acid (10µL)	Zeta 3 Wipes Total (10µL)	CuO nanofluid (10µL) ¹

1 - nanofluids extracted from a sample with 1.00% in volume of nanoparticles in demineralized water.

Table 1. Microbiological test.

2.6.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli is a gram-negative bacterium, present innocuously in the intestinal tract of humans, however, it may have pathogenic activity, being a major cause of IACs [20, 21].

2.6.2. Hospital disinfectant

The hospital disinfectant used was Zeta 3 Wipes Total (Bactericide), compound based on alcohols and with an alkaline pH (10.49).

3. Results and discussion

3.1. Evaluation of stability

For an agitation time of 60 minutes, it was possible to obtain stable nanofluids during 8 hours (figure 1). These results are associated with the fact that ethylene glycol is a nonionic surfactant [22-24].

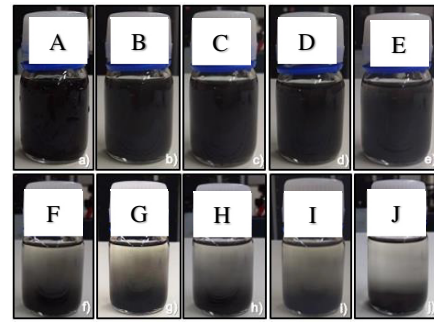


Figure 1. Stability evaluation of CuO nanofluids samples in ethylene glycol (0.25%) subjected to 60 minutes of ultrasonic agitation. A) immediately after agitation; B) after 2 hours; C) after 4 hours; D) after 6 hours; E) after 8 hours; F) after 22 hours; G) after 24 hours; H) after 26 hours; I) after 28 hours; J) after 48 hours.

3.2. Evaluation of electrical conductivity

As proved by Azimi H. R. and Taheri R., it is observed that with the increase of temperature and concentration of nanofluids (figure 2) there is an increase of electrical conductivity [25].

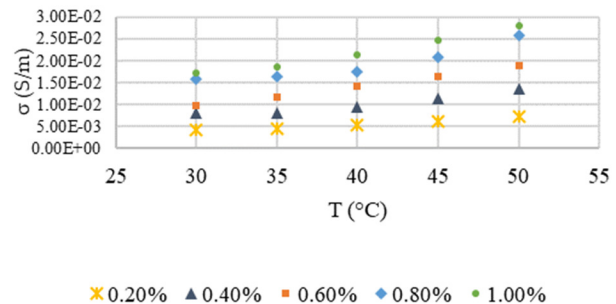


Figure 2. Effect of temperature (T) increase in the electrical conductivity (σ) of nanofluids samples with different percentages of nanoparticles in volume.

These results are in agreement with the predicted one, since with the increase of the temperature an increase of the mobility of the ions of a given solution occurs, which allows increased conduction of electric current [26]. Furthermore, a study carried out in 2013 showed that the electrical conductivity of CuO nanofluids in ethylene glycol increases with the increase of the quantity of nanoparticles present in the dispersion [27].

3.3. Evaluation of pH

The pH value of nanofluid samples was very unstable, indicating that the increase of temperature makes the nanofluid samples quite reactive. The pH variation detected may be associated to the fact that the samples show some instability when removed from the thermal bath (sedimentation). A study with CuO nanofluids allowed to conclude that the higher the pH value variation, the higher the thermal conductivity of nanofluids (thermal conductivity) [28].

3.4. Evaluation of antibacterial potential

The acetic acid (control) inhibited bacterial growth, as expected. However, the hospital disinfectant and the nanofluids did not reveal antibacterial activity (figure 3).

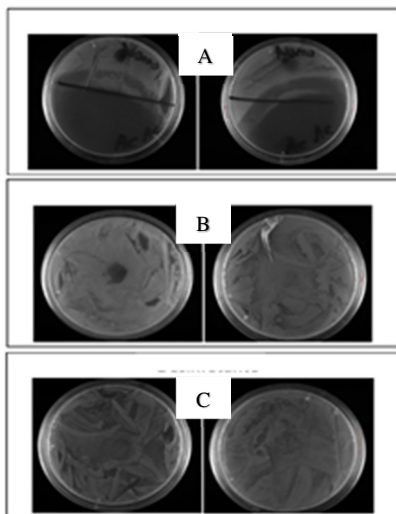


Figure 3. Evaluation of antibacterial potential of CuO nanofluids. A) Control; B) Nanofluids; C) Disinfectant.

Although the hospital disinfectant used is an antibacterial, the bacteria proliferated normally. Considering the results obtained, it is thought that the microbiological test performed maybe wasn't the most indicated. A study carried out in Brazil proved that the success of the application of alcohols in cultures of *Escherichia coli* is directly associated with the type of technique used [29]. It was hypothesized that the inefficiency of nanofluid is associated with its alkaline pH, considering that only the acid has proved to be an inhibitor. This hypothesis was rejected, since the hospital disinfectant, such as others commercialized, has a very alkaline pH (10.49).

4. Conclusions and future goals

In the present work CuO nanofluids and hospital disinfectant did not reveal antibacterial activity, it is believed that the microbiological test carried out may be not the most adequate and a new methodology must be developed through a different protocol. The results allowed to conclude that the choice of an adequate ultrasonic agitation time is a fundamental aspect to obtain stable dispersions. It was also verified that with the increase of temperature and concentration, there is an increase in electrical conductivity. On the other hand, it was realized that subjecting the samples of nanofluids to different temperatures increases their reactivity, which is reflected in the inconstancy of its pH and it may be associated to the increase in thermal conductivity.

In the future, it is intended to continue the studies carried out, improving the points where difficulties have occurred, namely, increase the number of replicates, in order to have a significant statistics results, and to improve the microbiological methods used.

Acknowledgements

This work is supported by FCT funds, project UID/EQU/04730/2013.

References

- [1] Mayon W., R. et al., "An international survey of the prevalence of hospital-acquired infection". *Journal of Hospital Infections*, vol.11 (suppl A), pp.43-48, 1988.
- [2] Orrett F. A., Brooks P. J., Richardson, E. G., "Nosocomial infections in a rural regional hospital in a developing country: infection rates by site, service, cost, and infection control practices". *Infection control and hospital epidemiology*, vol.19, n°2, pp.136-140, 1998.
- [3] Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Segurança do paciente e qualidade em serviços de saúde: medidas de prevenção de infecção relacionada à assistência à saúde. ANVISA, Brasil, 2013.
- [4] El-Kholy A., Saied T., Gaber M., Younan M. A., Haleim M. M. A., El-Sayed H., et al., "Device-associated nosocomial infection rates in intensive care units at Cairo university hospitals: first step toward initiating surveillance programs in a resource limited country". *American Journal of infection control*, vol.40, n°6, pp.216-220, 2012.
- [5] Inweregbu K., Dave J., Pittard A., "Nosocomial infections". *Continuing Education Anaesthesia Critical Care and Pain*, vol.5, n°1, pp.14-17, 2005.
- [6] Direção Geral de Saúde (DGS), Portugal: Prevenção e Controlo de Infecções e de Resistência aos Antimicrobianos em Números – 2015. Programa de Prevenção e Controlo de Infecções e de Resistência aos Antimicrobianos. Lisboa, 2016.
- [7] Otter J. A., Yezli S., Salkeld J. A. G., French G. L., "Evidence that contaminated surfaces contribute to the transmission of hospital pathogens and an overview of strategies to address contaminated surfaces in hospital settings". *American Journal of infection control*, vol.41, n°5, may, pp. S6-S11, 2013.
- [8] Salgado C. D., Sepkowitz K. A., John J. F., Cantey J. R., Attaway H. H., Freeman K. D., Sharpe P. A., Michels H. T., Schmidt M. G., "Cooper Surfaces Reduce the Rate of Healthcare-Acquired Infections in the Intensive Care Unit". *Infection control and hospital epidemiology*, vol.34, n°5, pp.479-486, 2013.
- [9] Huskins W. C., Huckabee C. M., O'Grady N. P., et al., "Intervention to reduce transmission of resistant bacteria in intensive care". *The New England Journal of Medicine*, vol.364, n°15, pp.1407-1418, 2011.
- [10] Rutala W.A, Weber D.J., "Healthcare Infection Control Practices Ad-visory Committee". *Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, 2008*: Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, 2008.
- [11] Otter J. A., Yezli S., French G. L., "The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens". *Infection control and hospital epidemiology*, vol.32, n°7, pp.687-699, 2011.
- [12] Association of Operating Room Nurses. "Proposed recommended practices for chemical disinfection". *AORN Journal*, vol. 60, n° 3, pp.463-466, 1994.

- [13] Health Canada. “Hand washing, cleaning, disinfection, and sterilization in health care”. *Canada Communicable Disease Report (CCDR)*, vol.24, nº8, pp.1-57, 1998.
- [14] Grigore M., Biscu E., Holban A., Gestal M., Grumezescu A., “Methods of Synthesis, Properties and Biomedical Applications of CuO Nanoparticles”. *Pharmaceuticals*, vol.9, nº4, p.75, 2016.
- [15] Kwak K., Kim C., “Viscosity and thermal conductivity of copper oxide nanofluids dispersed in ethylene glycol”. *Korea-Australia Rheology Journal*, vol.17, nº2, pp.35-40, 2005.
- [16] Zakaria I., Azmi W. H., Mohamede W. A. N. W., Mamat R., Najafi G., “Experimental Investigation of Thermal Conductivity and Electrical Conductivity of Al₂O₃ Nanofluids in Water – Ethylene Glycol Mixture for Proton Exchange Membrane Fuel Cell Application”. *International Communications in Heat and Mass Transfer*, vol.61, pp.61-68, 2015.
- [17] Dong M., Shen L. P., Wang H., Wang H. B., Miao J., “Investigation on the Electrical Conductivity of Transformer Oil-Based AlN Nanofluid”. *Journal of Nanomaterials*, vol.2013, pp.1-7, 2013.
- [18] Minea A. A., Luciu R. S., “Investigations on electrical conductivity of stabilized water based Al₂O₃ nanofluids”. *Microfluid Nanofluid*, vol.13, pp.977-985, 2012.
- [19] Ju-Xian W., Xin-Fang L., “Influence of pH ON Nanofluids’ Viscosity and Thermal Conductivity”. *Chinese Physics Letters*, vol.26, nº5, p.1, 2009.
- [20] Croxen M. A., Law R. J., Keeney K. M., Wlodarska M., Finlay B. B., “Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*”. *Clinical Microbiology Review*, vol. 26, nº4, pp.822-823, 2013.
- [21] Taj M. K., Samreen Z., Ling J. X., Taj I., Hassani T. M., Yunlin W., “Review Article: *Escherichia coli* as a model organism”. *International Journal of Engineering Research and Science & Technology*, vol.3, nº2, pp.1-8, 2014. ISSN: 2319-5991.
- [22] Mukherjee S., Paria, S., “Preparation and Stability of Nanofluids-A Review”. *IOSR Journal of Mechanical and Civil Engineering (IOSR-JMCE)*, vol.9, nº2, pp.63-69, 2013.
- [23] Viana C. A. N., Albuquerque L. M. P. C., “Propriedades físicas e estruturais do etilenoglicol e do glicerol e sua relação com propriedade químicas”. *Revista Portuguesa de química*, vol.24, nº225, 1982.
- [24] Villanova J. C. O., Oréfice R. L., Cunha A. S., “Aplicações Farmacêuticas de Polímeros”. *Polímeros: Ciência e Tecnologia*, vol. 20, nº1, p.59, 2010.
- [25] Azimi H. R., Taheri R., “Electrical conductivity of CuO nanofluids”. *International Journal of Nano Dimension*, vol.6, nº1, pp.77-81, 2015.
- [26] Barron J. J., Ashton C., “The Effect of Temperature on Conductivity Measurement”. *Technical Services Department, Reagecon Diagnostics Ltd*, nº3, pp.1-5, 2007.
- [27] Sarojini K. G. K., Manoj S. V., Singh P. K., Pradeep T., Das S. K., “Electrical conductivity of ceramic and metallic nanofluids”. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol.417, pp.39-46, 2013.
- [28] Goudarzi K., Nejati F., Shojaezadeh E., Asadi Yousef-abad S. K., “Experimental study on the effect of pH variation of nanofluids on the thermal efficiency of a solar collector with helical tube”. *International Journal of Experimental Heat Transfer, Thermodynamics and Fluid Mechanics*, vol.60, pp.20-27, 2015.
- [29] Andrade D., Beraldo C. C., Watanabe E., Oliveira B. A., Ito IY, “Atividade antimicrobiana in vitro do álcool gel a 70% frente às bactérias hospitalares e da comunidade”. *Medicina Ribeirão Preto*, vol.40, nº2, pp.250-254, 2007.

Señales Biomédicas IV

viernes, 1 de Diciembre

Método para la Delineación de Ondas P en el ECG Basado en Modelado Gaussiano

F. González Molina¹, R. Alcaraz Martínez², J.J. Rieta Ibáñez¹

¹BioMIT.org, Dep. de Ingeniería Electrónica, Universitat Politècnica de Valencia, España, {fgmolina, jjrieta}@upv.es

²Grupo de Inv. en Electrónica, Telecom. y Bioingeniería, Univ. de Castilla-La Mancha, España, raul.alcaraz@uclm.es

Resumen

El estudio de la onda P en el electrocardiograma es fundamental para caracterizar posibles defectos de conducción que anticipen patologías cardíacas como la fibrilación auricular. Por ello, es necesario el desarrollo de métodos fiables que, de forma automática, detecten y delinee este tipo de ondas. Siguiendo este propósito, en los últimos años se han propuesto muchas estrategias de delineación diferentes. Sin embargo, todas ellas comparten el mismo principio de suavizado agresivo de las ondas para facilitar su delineación, lo cual puede provocar alteraciones morfológicas sustanciales que impliquen una delineación imprecisa. Como alternativa, el método que se presenta en este trabajo opta por un acondicionamiento menos agresivo de la señal y la generación de modelos Gaussianos para cada onda. Así, estos modelos ejercen como asistentes para la delineación de las ondas P, que se realiza mediante la diferenciación de éstas y el establecimiento de un umbral de pendiente adaptativo que tiene en cuenta información sobre el histórico de las ondas previamente delineadas. Este método se validó haciendo uso de los registros de la base datos anotada QT de Physionet. Los resultados de la delineación automática, comparados con las anotaciones, reportaron una sensibilidad del 100% y un error medio y desviación típica para inicio, pico máximo y final de las ondas P de 4.71 ± 9.59 ms, 2.82 ± 6.69 ms y 0.60 ± 9.79 ms, respectivamente. Estos resultados muestran que la estrategia seguida proporciona una delineación precisa y estable, mejorando otros métodos presentes en la literatura.

1. Introducción

La onda P en el electrocardiograma (ECG), siendo la representación de la actividad eléctrica auricular, se considera la fuente de información no invasiva más fiable sobre la conducción eléctrica en esta región del corazón [1]. Algunas características morfológicas de esta onda, como su duración o dispersión, entre otras, se han asociado con una mayor incidencia y recurrencia de la fibrilación auricular, la arritmia sostenida más frecuente [2]. Sin embargo, la falta de una técnica estándar de medición, así como de un consenso claro acerca de la localización exacta de los límites de estas formas de onda, hacen que delimitar las ondas P sea una tarea compleja. Además, la delineación manual requiere de mucho tiempo y los resultados de la misma pueden variar considerablemente en función de factores diversos como la experiencia del cardiólogo, su grado de cansancio y concentración o la presencia de ruido en la señal [3]. Como respuesta a ello, se han desarrollado una gran variedad de métodos automáticos de delineación de ondas P basados en diferentes estrategias, que van desde el uso de transformadas matemáticas, como la transformada fasorial [4] o la transformada Wavelet [3, 5], hasta la dife-

renciación de la señal del ECG [6], entre otras. El método que en este estudio se presenta está basado en la diferenciación de la señal, tomando como referencia el propuesto por Laguna et al. [6], pero con diferencias significativas, como son el cálculo de un umbral de pendiente adaptativo teniendo en cuenta las características morfológicas de las anteriores ondas P delineadas o la creación de un modelo Gaussiano para cada onda P que ayude a su delineación. De esta manera, se ha diseñado un algoritmo capaz de detectar y delinear con precisión una amplia variedad de ondas P, siendo más respetuoso con las diferentes morfologías de las ondas y más estable que otros métodos previos.

2. Método

2.1. Preprocesado

Antes de aplicar a la señal de ECG el algoritmo de delineación en sí, ésta debe pasar por un proceso previo de acondicionamiento. En esta etapa, inicialmente, la señal es remuestreada, si no lo estaba ya, a 1 kHz. Seguidamente, la línea base se elimina mediante la substracción de su envolvente y la componente de frecuencia correspondiente al ruido provocado por la red eléctrica se anula mediante filtrado adaptativo. A continuación, el ruido de alta frecuencia procedente de la actividad eléctrica muscular se reduce, aplicando un método basado en la transformada Wavelet y un filtrado bidireccional paso bajo cuya frecuencia de corte se ha establecido en 70 Hz, un valor bastante superior a los tomados por otros métodos comparables [3, 6]. La selección de este filtrado, menos agresivo de lo habitual en otros delineadores, está justificada por la deseable reducción de los transitorios que se produce en la cercanía del complejo QRS y la demostrada existencia, en la onda P, de componentes de frecuencia mayor de los que normalmente se contemplan [7]. Para finalizar el preprocesado de la señal, se realiza una localización supervisada de los picos R a lo largo de ella [8].

2.2. Algoritmo de delineación adaptativo

En el método propuesto, las ondas P a delinear no son tratadas de forma independiente, sino que ciertos parámetros calculados a partir de aquellas anteriormente delineadas son usados para guiar la localización de los puntos fiduciales de cada nueva onda. Entre estos parámetros se incluyen la distancia aproximada entre el pico R correspondiente y la onda P (dPR); la duración aproximada de ésta (durP),

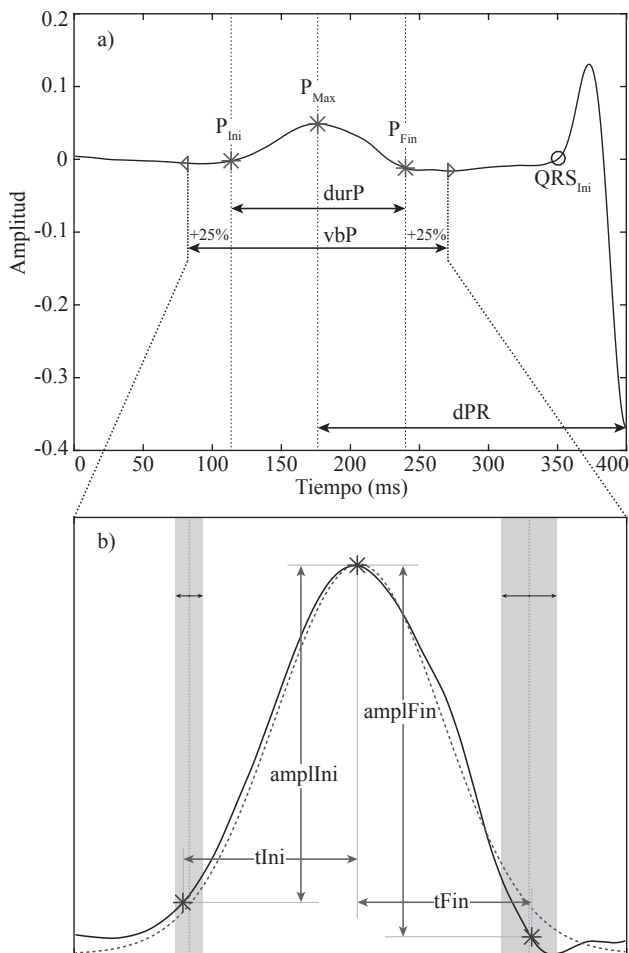


Figura 1. (a) Señal de referencia sobre la que se muestran, con un círculo, la posición estimada del inicio del complejo QRS (QRS_{Ini}) y, con asteriscos, los puntos fiduciales de la onda P. Además, se exhiben la distancia entre onda P y pico R (dPR) y la duración de la onda P ($durP$) junto con el de la ventana de búsqueda (vbP), calculada a partir de ella. (b) La misma onda P de (a) expandida (línea continua) y los parámetros morfológicos de la misma. También se muestran, sombreados, los intervalos de búsqueda de las posiciones de inicio y final de onda centrados en los homólogos del modelo Gaussiano (línea discontinua).

que define una ventana de búsqueda expandiendo su anchura por cada lado un 25% (vbP); el tipo de morfología; la diferencia en tiempo y amplitud entre pico máximo y cada uno de los límites de onda ($amplIni$, $amplFin$, $tIni$, $tFin$) y algunos coeficientes iniciales de la función Gaussiana para facilitar la búsqueda del mejor nuevo ajuste. Algunos de estos parámetros se muestran en la Figura 1. Así, estos parámetros se van actualizando con cada nueva onda procesada, con un ratio de impacto de un 20% sobre el valor existente. Además, antes de ello, se comprueba si la diferencia entre ambos valores es mayor a un 25%. En tal caso, la onda es catalogada como anormal y no se actualizarán los valores, obteniendo, así, un registro a tiempo real sobre las ondas P cuya morfología se aleja de la norma.

Naturalmente, para dar un valor inicial a estos parámetros, se hace necesaria la inclusión de una etapa de inicialización en la que se crea una onda P de referencia, de la que obtener estos datos. Para ello, se toman los tramos de señal previos a los cinco primeros picos R detectados y, mediante

un promediado, se crea un segmento de señal que se llamará, también, de referencia. Sobre este segmento, del que se muestra un ejemplo en la Figura 1.a, se realizarán de forma secuencial los procesos de detección de la onda P, clasificación de su morfología y delineación. Tras ello, tanto la primera como la última etapa se aplican a cada nueva onda P de forma individualizada.

2.3. Detección

Para la detección de la onda P, se ha optado por una búsqueda simple del pico de mayor amplitud en una ventana de búsqueda determinada. Inicialmente, para el caso de la onda P de referencia, la ventana de búsqueda se extiende desde el inicio del complejo QRS previamente estimado, hacia atrás en la señal de referencia, con una duración igual a un tercio de la mediana de las distancias RR. Así, se obtiene un valor inicial para el parámetro dPR , que posteriormente se usará para el cálculo de la posición donde centrar las nuevas ventanas de búsqueda para cada onda P con respecto a su correspondiente onda R.

En torno al pico máximo detectado, se aísla un tramo de señal resultando en la onda P a delinear. La longitud de esta señal, para el caso inicial de referencia, se ha establecido en 180 ms, ampliándose o reduciéndose en 20 ms para casos de intervalo RR promedio demasiado largo (>900 ms) o demasiado corto (<600 ms), respectivamente. Posteriormente, esta longitud se adaptará según la longitud específica de la onda P de referencia, dando valor inicial al parámetro vbP . En la Figura 1.a se muestra de forma visual la prolongación simétrica de $durP$ para la obtención del ancho de la ventana de búsqueda, o vbP .

2.4. Clasificación

Tras detectar la onda P de referencia, ésta debe ser clasificada como monofásica positiva, monofásica negativa o bifásica, ya sea con polaridad positiva-negativa o negativa-positiva. Para este fin se usa un árbol de decisión basado en ajustes Gaussianos que se describe a continuación.

Primero, se genera una función Gaussiana de manera que se ajuste de la mejor forma posible a la onda P de referencia. En caso de que el coeficiente de correlación de Pearson entre la onda y su modelo supere el valor establecido de 0.7, lo que de aquí en adelante se considera un buen ajuste, se clasifica como monofásica positiva y se termina el proceso de clasificación. En caso contrario, se repite la operación con la onda invertida. Si en este nuevo caso sí se obtiene un buen ajuste, entonces la onda se clasifica como monofásica negativa y si no, como bifásica. Para este último caso, además, se busca el segundo pico de la onda con polaridad contraria al inicialmente detectado. Por tanto, la onda P de referencia se vuelve a centrar en el punto medio entre ambos picos y se perseguirá un buen ajuste aumentando el orden de la función Gaussiana.

Este proceso inicial de clasificación morfológica de la onda P no se vuelve a repetir en el posterior procesado individualizado de ondas, pues se asume que las ondas P del ECG bajo estudio mantienen un tipo de morfología similar a lo largo del tiempo de registro.

2.5. Delineación

Esta última etapa de delineación es prácticamente igual para el caso de la onda P de referencia que para las ondas individuales. La única diferencia es que, para el caso inicial, únicamente se considera un candidato para cada punto fiducial, mientras que para el resto sí pueden existir varios aspirantes a límite de onda. En este último caso, se elige aquel candidato más cercano a la posición que, con respecto al pico máximo, definen las distancias históricamente calculadas, amplIni y $t\text{Ini}$ para el inicio de onda y amplFin y $t\text{Fin}$ para el final.

La delineación comienza con la generación del modelo Gaussiano que mejor se ajuste a la señal correspondiente a la onda P aislada, que en el caso de la de referencia ya se obtuvo en la etapa anterior de clasificación. De esta forma, en primer lugar se produce la diferenciación del modelo Gaussiano, identificando para cada mitad de onda los valores máximos donde la señal presenta los puntos de mayor pendiente. Después, a partir de cada uno de ellos, se calcula un umbral de pendiente que se usa para localizar, en cada caso, los límites de la onda como los primeros puntos en excederlo. Seguidamente, una vez los puntos fiduciales del modelo Gaussiano se han identificado, en torno a sus respectivas posiciones se define un intervalo de búsqueda como los que se muestran en la Figura 1.b en forma de área sombreada. Así, se repite el mismo proceso de diferenciación y búsqueda de puntos donde la pendiente exceda el umbral calculado con la señal real, pero restringiendo la búsqueda al intervalo establecido, cuya anchura depende de lo bien que se ajuste el modelo a la señal real, esto es, siendo más estrecho mientras más parecido sea el ajuste Gaussiano a la onda P real. En la Figura 1.b se puede observar cómo para la posición de inicio de onda este intervalo es más estrecho que para la del final. Ello es debido a que, en este caso, la primera mitad de la onda P se ajusta mejor al modelo Gaussiano.

Para determinar la relación matemática entre los valores de pendiente máxima y la correspondiente pendiente en el límite de onda que definiese el umbral, dos cardiólogos expertos delinearon manualmente un total de 60 ondas P. De esta forma, se llegó a la conclusión de que la función matemática que mejor reflejaba la relación entre pendiente máxima y umbral es la siguiente:

$$Umb(x) = \frac{0.0058 \cdot x}{x + 0.012}, \quad (1)$$

donde x es la pendiente máxima de la onda y Umb el umbral resultante.

Evidentemente, el éxito o no de la delineación depende en gran medida de lo bueno que sea el ajuste Gaussiano. Por ello, a la hora de lidiar con ondas P asimétricas, situación en la que en ningún caso será posible generar un ajuste Gaussiano satisfactorio, se opta por un tratamiento especial. Así, en los casos en los que alguna de las mitades de la onda P no se ajuste bien a su mitad correspondiente del modelo, lo cual se evalúa mediante el ya citado coeficiente de correlación de Pearson, se tomará dicha mitad y se uni-

Método	P. V.	P _{Ini}	P _{Max}	P _{Fin}
Este método	Se(%)	100	100	100
	$\mu \pm \sigma$ (ms)	4.7±9.6	2.8±6.7	0.6±9.8
A. Martínez et al. [4]	Se(%)	98.65	98.65	98.65
	$\mu \pm \sigma$ (ms)	2.6±14.5	32±25.7	0.7±14.7
J.P. Martínez et al. [5]	Se(%)	98.87	98.87	98.87
	$\mu \pm \sigma$ (ms)	2.0±14.8	3.6±13.2	1.9±12.8
P. Laguna et al. [6]	Se(%)	97.7	97.7	97.7
	$\mu \pm \sigma$ (ms)	14±13.3	4.8±10.6	-0.1±12.3

Tabla 1. Comparación del desempeño de algunos de los métodos de delineación de onda P más relevantes presentes en la literatura mediante los resultados obtenidos por medio de dos Parámetros de Validación (P. V.) haciendo uso de la base de los datos anotada QT.

rá con su propia imagen especular, creando de esta forma una onda P artificial completamente simétrica, de la cual únicamente una mitad tendrá que ser delineada.

3. Evaluación del Método

El desempeño del método de delineación propuesto se evaluó aplicando éste a los registros de la base de datos estándar de referencia QT de Physionet [9]. Esta base de datos contiene 105 registros de 15 minutos de duración de ECGs de dos derivaciones, en cada uno de los cuales, al menos, hay 30 latidos manualmente anotados. Contiene dos grupos de anotaciones realizadas por sendos cardiólogos. Sin embargo, para este estudio, únicamente se tomó como referencia el que contiene un número de anotaciones significativamente mayor. Así, se compararon las distancias en tiempo entre las citadas anotaciones manuales y las propias resultantes del método automático. A partir de la discrepancia en tiempo o error, se ha obtenido un resultado global en términos del valor medio del error (μ) y desviación típica (σ) según propusieron Martínez et al. [5]. También se ha calculado el porcentaje de puntos fiduciales anotados correctamente detectados mediante la sensibilidad (Se %), definida como:

$$Se(\%) = \frac{TP}{TP + FN}, \quad (2)$$

donde TP, verdaderos positivos, corresponde al número de anotaciones correctamente detectadas y FN, falsos negativos, a las no detectadas.

4. Resultados

Los resultados del método, expuestos en la Tabla 1, se obtuvieron tras evaluar la delineación de un total de 3176 ondas P anotadas de 96 de los registros de la base de datos QT. Los registros *sel102*, *sel221*, *sel232*, *sel310*, *sel36*, *sel37*, *sel50* se descartaron al no contar con anotaciones de ondas P con las que comparar las detecciones del método y los registros *sel104* y *sel36*, por no presentar un mínimo de tres ondas P anotadas consecutivas y, por tanto, no poder explotar la naturaleza adaptativa del algoritmo. Además, en la tabla de resultados se presentan los aportados por otros métodos de delineación de onda P relevantes que han hecho uso de la base de datos QT.

5. Discusión

Los buenos resultados obtenidos, mostrados en la Tabla 1, tras haber delineado más de 3000 ondas P procedentes de una gran diversidad de registros específicamente seleccionados para reflejar la variabilidad presente en el mundo real [9], demuestran que el método propuesto es una buena opción para detectar y delinear de manera precisa ondas P, sin importar su morfología. Además, los extraordinarios resultados de desviación típica que se han obtenido, mejorando a los otros delineadores, reflejan que las estrategias seguidas confieren al método una gran estabilidad que refuerza su fiabilidad. Por último, estos valores, tanto para el inicio como para el final de la onda P, se encuentran por debajo de los límites de tolerancia aceptables establecidos por el grupo de trabajo CSE, que son, respectivamente, 10.2 y 12.7 ms [10].

Por otro lado, en la Tabla 1 se observa que los resultados de error medio, aunque bastante buenos, son mejorados en algunos casos por otros métodos. Sin embargo, este parámetro de validación puede ser engañoso, pues podría beneficiarse de la compensación producida entre delineaciones prematuras y tardías. Esta fuente de desconfianza se podría evitar si se tomase el error absoluto como alternativa a este parámetro estándar de validación.

Una de las principales ventajas que presenta el algoritmo presentado con respecto a otros, basados en complejas transformadas matemáticas [3–5], es que se desarrolla íntegramente en el dominio del tiempo. Esta característica permite detectar fácilmente ondas con morfologías anómalas y tener un registro de las mismas, aumentando la información proporcionada y haciendo de éste un método muy versátil. Además, al ser una estrategia más intuitiva y cercana al modo de proceder de los cardiólogos durante la anotación manual de registros, permite que estos puedan guiar o asistir más fácilmente en el desarrollo de posibles futuras mejoras del método.

6. Conclusiones

En este estudio se ha presentado un método novedoso capaz de detectar y delinear automáticamente y de forma precisa cualquier tipo de onda P. Está basado en la diferenciación de la onda y el uso de modelos Gaussianos y de información sobre el histórico de ondas procesadas para asistir la delineación de cada onda P. Todas estas particularidades han permitido alcanzar unos resultados, con respecto a las anotaciones manuales de la base de datos QT, que mejoran a otros métodos presentados en la literatura. Además, el algoritmo diseñado admite nuevas funcionalidades, como la

detección de ondas con morfología anómala o la posibilidad de guardar registros sobre la evolución de ciertos parámetros morfológicos de estas ondas a lo largo de la señal. Por tanto, este método se presenta como una solución para la identificación de cambios progresivos en las propiedades de propagación eléctrica auriculares que, eventualmente, pueda ayudar a reconocer procesos internos, como el remodelado auricular, o predecir la ocurrencia de episodios arrítmicos, como la fibrilación auricular.

Agradecimientos

Trabajo financiado por los proyectos TEC2014–52250–R y DPI2017–83952–C3 MINECO/AEI/FEDER, UE.

Referencias

- [1] Platonov PG. Atrial conduction and atrial fibrillation: What can we learn from surface ECG? *Cardiology Journal* 2008; 15(5):402–407.
- [2] Magnani JW, Williamson MA, Ellinor PT, Monahan KM, Benjamin EJ. P-wave indices: current status and future directions in epidemiology, clinical, and research applications. *Circulation Arrhythmia and electrophysiology* Feb 2009;2:72–9.
- [3] Lenis G, Pilia N, Oesterlein T, Luik A, Schmitt C, Dössel O. P-wave detection and delineation in the ECG based on the phase free stationary wavelet transform and using intracardiac atrial electrograms as reference. *Biomedizinische Technik* 2016;61(1):37–56.
- [4] Martínez A, Alcaraz R, Rieta JJ. Application of the phasor transform for automatic delineation of single-lead ECG fiducial points. *Physiological Measurement* 2010; 31(11):1467–1485.
- [5] Martínez JP, Almeida R, Olmos S, Rocha AP, Laguna P. A wavelet-based ECG delineator evaluation on standard databases. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 2004; 51(4):570–581.
- [6] Laguna P, Jané R, Caminal P. Automatic detection of wave boundaries in multilead ECG signals: Validation with the CSE database. *Computers and Biomedical Research* 1994; 27(1):45–60.
- [7] Sörnmo L, Laguna P. Chapter 6 - the electrocardiogram-a brief background. In *Bioelectrical Signal Processing in Cardiac and Neurological Applications*, Biomedical Engineering. Burlington: Academic Press. ISBN 978-0-12-437552-9, 2005; 411 – 452.
- [8] Kohler B, Hennig C, Orglmeister R. The principles of software QRS detection. *Engineering in Medicine and Biology Magazine IEEE* 2002;21(1):42–57.
- [9] Laguna P, Mark RG, Goldberg A, Moody GB. Database for evaluation of algorithms for measurement of QT and other waveform intervals in the ECG. In *Computers in Cardiology*. 1997; 673–676.
- [10] The CSE working party. Recommendations for measurement standards in quantitative electrocardiography. *European heart journal* Oct 1985;6:815–25.

Estudio Sobre la Fiabilidad de las Anotaciones en la Base de Datos QT de Physionet

F. González Molina¹, R. Alcaraz Martínez², J.J. Rieta Ibáñez¹

¹BioMIT.org, Dept. de Ingeniería Electrónica, Universitat Politècnica de Valencia, España, {fgmolina, jjrieta}@upv.es

²Grupo de Inv. en Electrónica, Telecom. y Bioingeniería, Univ. de Castilla-La Mancha, España, raul.alcaraz@uclm.es

Resumen

La base de datos QT (BDQT) es un referente en análisis electrocardiográfico gracias a dos factores: la amplia variedad de morfologías que contiene y las anotaciones manuales, que determinan los puntos fiduciales de un buen número de latidos. Por ello, es una referencia habitual en la validación de delineadores de ECG. Sin embargo, un porcentaje significativo de sus anotaciones se ha calificado como impreciso, lo cual hace que ningún algoritmo de delineación, por eficiente que sea, pueda conseguir un resultado óptimo. En este trabajo se analizan tanto las imprecisiones de anotación, como la influencia del ruido en el ECG durante la anotación. Se han estudiado las anotaciones en ondas P porque este efecto es mayor para ondas de baja amplitud. Estas anotaciones se compararon con el resultado de aplicar un delineador automático a la señal original con ruido y, después, reduciendo éste mediante un método eficiente basado en la transformada Wavelet. Los resultados mostraron que las anotaciones automáticas se encontraban más cerca de las manuales para el caso de señal ruidosa en un porcentaje significativo de los registros, evidenciando la influencia del ruido en la localización de las anotaciones manuales. Concretamente, esta mejora irreal en la delineación se obtuvo para el inicio, pico máximo y final de onda P, en el 45.83 %, 52.29 % y 56.25 % de los registros, respectivamente. Por tanto, para mejorar la fiabilidad de la validación de delineadores, se hace necesaria la revisión de las anotaciones de la BDQT o el reemplazo de ésta por otra mejor anotada.

1. Introducción

Para poder ser usado en un contexto clínico, cualquier algoritmo de procesado de ECG debe ser validado mediante la evaluación de su rendimiento en un contexto lo más realista posible [1]. Para ello, es necesaria la disponibilidad de bases de datos lo suficientemente extensas como para que cubran la gran diversidad de patrones de ondas que los registros de ECG pueden presentar [1]. Además, para el caso específico de métodos como los delineadores de ondas, son necesarias anotaciones que definan de forma precisa los instantes de tiempo en los que ocurren estos eventos. Para poder confiar en las anotaciones, éstas deben haber sido minuciosamente realizadas de forma manual por expertos. Sin embargo, son muchos los factores que pueden influir negativamente en este proceso y, por tanto, comprometer su resultado.

Los investigadores tienen a su disposición un número considerable de bases de datos estándares de ECG, cuyas características propias están estrechamente ligadas al objetivo específico por el cual se crearon inicialmente. Dos de ellas son la base de datos de arritmias MIT-BIH [2] y la

base de datos AHA, que se desarrollaron para evaluar el desempeño de distintos detectores de arritmias. Por otro lado, la base de datos europea ST-T se creó como respuesta al creciente interés en el análisis del segmento ST-T como indicativo de isquemia miocárdica [3]. Sin embargo, ninguna de las bases de datos hasta ahora mencionadas contiene anotaciones manuales que definan los límites y el pico máximo de las ondas del ECG, algo fundamental para la validación de algoritmos automáticos de delineación. Así, respondiendo a esta necesidad, surgieron la base de datos de mediciones multiderivación CSE [4] y la base de datos QT (QTDB) [5]. Sin embargo, debido a características distintivas, como la posibilidad de acceso libre o una mayor cantidad de ondas anotadas de forma manual por expertos, esta última base de datos se ha posicionado como la referencia más usada para la validación de delineadores de onda P en los últimos años. No obstante, las anotaciones de la BDQT no son siempre precisas, lo cual puede llegar a generar desconfianza en su uso como vía de validación de algoritmos de procesado de ECG. Por ello, en este estudio se evaluará la calidad de las anotaciones de la BDQT, para el caso de la onda P, y se analizará el origen de los posibles errores en la localización de las mismas.

2. Base de datos QT

La BDQT, disponible gratuitamente en Physionet, está compuesta por un total de 105 registros de ECG de dos canales con una duración de quince minutos cada uno. Estas señales se seleccionaron de otras bases de datos existentes, específicamente, de forma que reflejasen la amplia variabilidad de morfologías que puedan presentar las ondas del ECG en el mundo real [5]. Además, esta base de datos contiene anotaciones manuales que marcan la posición de inicio, pico máximo y final de la onda P; inicio y final del complejo QRS; pico y final de la onda T y, si estuviese presente, pico y final de la onda U. Por cada registro, se proporcionan anotaciones de, al menos, 30 latidos seleccionados para representar el patrón de forma de onda predominante en la señal.

Esta base de datos consta de dos grupos de anotaciones realizadas por sendos expertos. Sin embargo, uno de los conjuntos contiene únicamente 11 registros anotados, por lo que rara vez se ha usado para validar algún método de delineación de ECG. Debido a ello, este estudio se centra en el análisis del grupo con mayor número de anotaciones.

El proceso de anotación manual de señales es una tarea lenta y compleja. Además, variables tales como la experiencia del anotador, su grado de concentración y cansancio, la fiabilidad y precisión de la herramienta de anotación usada, o la presencia de morfologías anómalas en la señal, pueden influir en el resultado final de la anotación, comprometiendo su exactitud.

Asimismo, las señales del ECG se ven afectadas en gran medida por diversas fuentes de ruido, como el producido por la actividad eléctrica de los músculos cercanos al corazón, la red eléctrica o un mal contacto del electrodo usado para la obtención de la señal [6]. El problema de estas perturbaciones es que pueden producir alteraciones de la auténtica morfología de la señal. Además, para ondas de baja amplitud, como la onda P, este efecto se acrecienta. Por ello, la onda P se ha seleccionado en el presente trabajo como objeto para la evaluación de las anotaciones manuales de la BDQT. Además, el estudio de esta onda ha despertado un creciente interés debido a la demostrada relación existente entre sus características morfológicas y ciertas afecciones cardíacas, como la recurrencia de la fibrilación auricular [7].

3. Análisis de la fiabilidad de la BDQT

3.1. Anotaciones multiderivación

En el proceso de anotación manual de los registros de la BDQT, se analizaron ambos canales simultáneamente, y la decisión sobre la posición de cada punto fiducial se tomó de forma que ésta fuese común para las dos derivaciones [5]. Sin embargo, es conocido que la disposición en el tiempo de las distintas ondas del ECG es diferente en función de la derivación considerada en cada caso, pues cada una corresponde a una proyección distinta del vector cardíaco [8]. Por tanto, este modo de proceder, unido a la falta de información acerca de cuál de los dos canales se utilizó como referencia de la anotación en cada caso, dificulta el uso de esta base de datos anotada como método de validación de algoritmos de delineación.

Para superar este obstáculo, los desarrolladores de este tipo de algoritmos se han inclinado por dos estrategias diferentes [9]. Por un lado, algunos han optado por asumir que para la anotación de cada registro se consideró únicamente una de las derivaciones, tomando así, como referencia para cada uno de ellos, el canal en el que las correspondientes al método automático se acercan más a las manuales. Por otro lado, otros desarrolladores han decidido tomar como referencia, para cada punto marcado manualmente en la base de datos, la anotación automática más cercana a él, sin importar a qué derivación correspondiera. Ambas estrategias, de un modo u otro, están orientadas a obtener una ventaja injusta de la base de datos, debido a la forma en la que está anotada.

3.2. Criterios de anotación variables

En la comunidad científica no existe un consenso claro acerca de la posición exacta de los límites de la onda P en el ECG. Por ello, al no conocer el criterio seguido por los

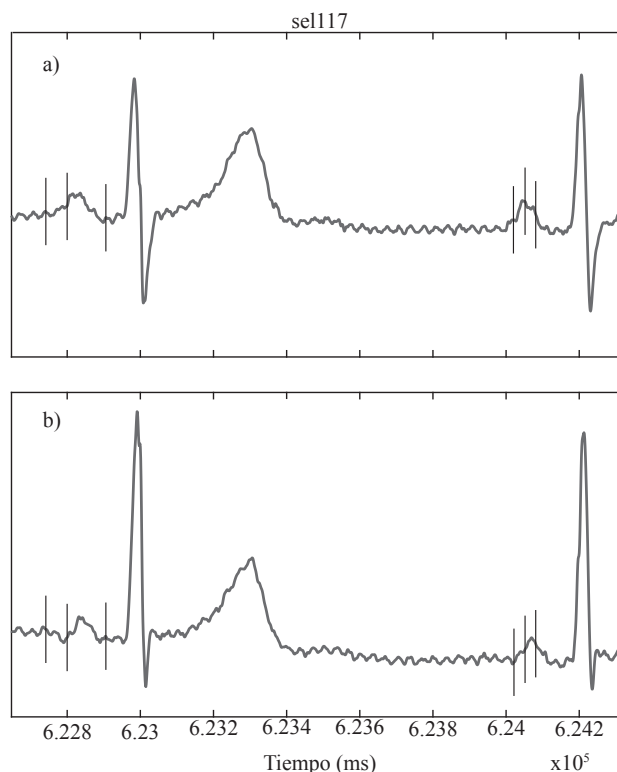


Figura 1. Ejemplo de los dos canales, a) y b), de un segmento de señal correspondiente al registro sel117 de la BDQT, en los que se muestran, sobre dos ondas P consecutivas, sus discutibles anotaciones manuales mediante líneas verticales. Concretamente, las ondas se corresponden a la 19ª y la 20ª onda P manualmente anotada en este registro. Obsérvense, especialmente, los finales de la segunda onda P en cada registro.

expertos para localizar los puntos fiduciales en esta onda, generalmente no es posible clasificar una anotación como errónea o imprecisa de forma categórica. Sin embargo, en algunos casos específicos, es difícilmente debatible que las anotaciones son manifiestamente defectuosas.

Uno de los casos en los que esto ocurre es cuando el punto anotado se encuentra significativamente lejos de la zona de la señal en la que una anotación puede ser considerada como correctamente localizada de forma intuitiva. En la Figura 1 se muestra un ejemplo de dos ondas P consecutivas anotadas que responden a esta situación. Se muestran ambos canales debido a la ya comentada falta de información específica acerca de cuál se tomó en cuenta durante el proceso de anotación.

Por otro lado, otra situación en la que el error en la anotación manual es incontestable, tiene lugar cuando se identifican criterios de anotación dispares en ondas cuya morfología es muy similar, tal y como se muestra en la Figura 2. En ella se puede observar cómo el final de dos ondas consecutivas se ha anotado tomando dos criterios dispares, etiquetados como c.1 y c.2. Así, para cada onda, se han marcado tanto la anotación manual original como la posición aproximada que hubiese tenido ésta si para cada caso se hubiese seguido el criterio alternativo. De esta manera, aunque ambos criterios pudieran ser aceptados como válidos, esta manifiesta discordancia evidencia un error en, al menos, una de las anotaciones.

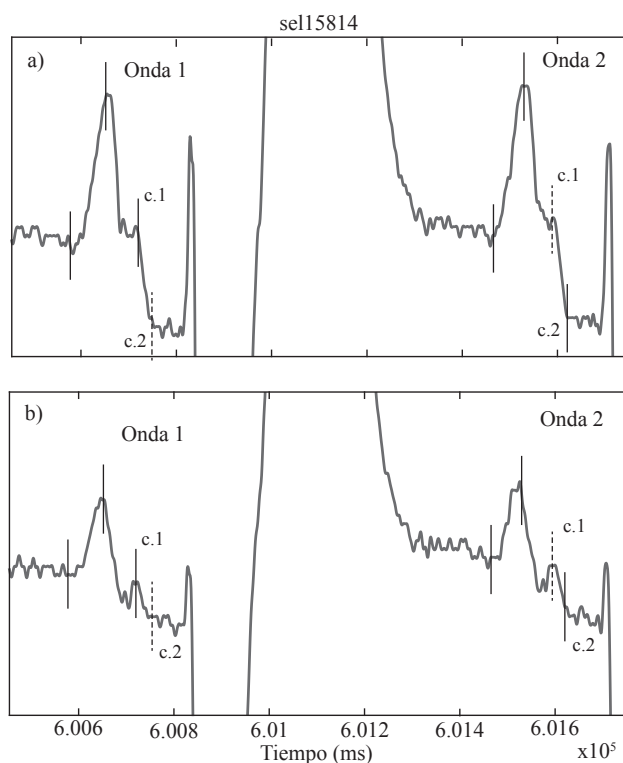


Figura 2. Ejemplo de los dos canales, a) y b), de un segmento de señal correspondiente al registro sel15814 de la BDQT, en el que se muestra la disparidad de criterios seguidos para la anotación del final de las dos primeras ondas P de este registro. Con líneas continuas se marcan las anotaciones manuales y con discontinuas, la posición aproximada de la anotación si se siguiese el criterio alternativo, c.1 ó c.2., en cada caso

3.3. Importancia del ruido

Por último, se debe tener en cuenta que las bioseñales como el ECG, y especialmente las ondas P debido a su baja amplitud, se ven profundamente afectadas por ruido. Así, anotar señales que muestren altos niveles de ruido puede provocar desplazamientos indeseados en la posición de los puntos fiduciales marcados. Por ello, aunque los especialistas están entrenados para superar estas condiciones adversas, y muchas veces consiguen obviar la presencia de ruido; otras veces, éste hace que fallen en el proceso de anotación, pese a tomar decisiones similares. Esto puede ser fácilmente revelado por medio de un tratamiento simple de limpieza de ruido de la señal, tal y como se muestra en la Figura 3. En ella se exhiben dos ondas P anotadas, a) y b), y, bajo éstas, en a') y b'), las mismas ondas tras aplicarles un proceso de reducción de ruido basado en la transformada Wavelet [10]. Así, en a) se observan, sobre la señal ruidosa, unas anotaciones que podrían ser consideradas defectuosas, y, tras limpiar la señal, en a') comprobamos que éstas son bastante precisas. Por contra, en b) y b') se presenta el caso opuesto, en el que una onda con ruido pudiera parecer bien anotada y tras reducir la presencia de éste, estas anotaciones pasan a ser más discutibles.

4. Metodología y resultados

Todos los registros de la BDQT, en mayor o menor medida, están afectados por el ruido y, consecuentemente,

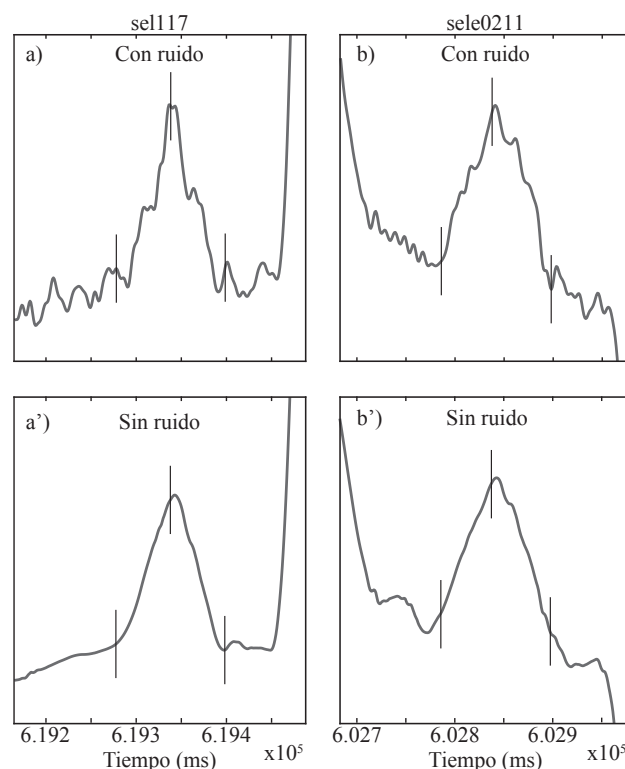


Figura 3. Ejemplo ilustrativo del efecto del ruido sobre las anotaciones manuales de la BDQT. En a) y b) se muestran, respectivamente, la 16ª onda P anotada del registro sel117 y la 5ª onda del registro sele0211. En a') y b') se presentan las ondas resultantes, junto con sus anotaciones, tras reducir la presencia de ruido en las mismas.

también sus anotaciones. Para cuantificar aproximadamente este hecho, se ha aplicado un delineador automático a las ondas P, antes y después de reducir la presencia de ruido en la señal mediante un método basado en la transformada Wavelet [10]. Después, para cada caso, se ha calculado el error absoluto medio entre las anotaciones automáticas y las manuales. Esto se ha llevado a cabo aplicando el algoritmo a los dos canales y calculando el error para cada punto fiducial como la diferencia temporal entre la anotación manual y la automática más cercana en cada caso.

Debido a su robustez bajo condiciones de ruido, para la delineación de ondas P se ha aplicado un nuevo método adaptativo basado en la generación de modelos Gaussianos de ondas P [11]. Se analizó un total de 96 registros de la BDQT, descartándose aquellos con menos de tres ondas P consecutivas anotadas.

Los resultados de este estudio mostraron que, en muchos casos, las posiciones de las anotaciones automáticas eran más próximas a las de las manuales para señales de ECG con ruido que sin él. Esta mejora irreal en el desempeño del algoritmo de delineación bajo condiciones de ruido se produjo para el inicio, pico máximo y final de las ondas P en un 45.83 %, 57.29 % y 56.25 % de los registros, respectivamente. Por lo tanto, se ha comprobado que la influencia del ruido y, quizás, otros aspectos que lleven a la incorrecta anotación de las ondas P, son altamente relevantes y deberían ser considerados seriamente.

5. Discusión

Como se ha constatado a lo largo de este estudio, la existencia de anotaciones imprecisas en las ondas P en los registros de la BDQT es un hecho innegable. Ya anteriormente algunos estudios han señalado esta circunstancia, asumiendo el error producido por estos defectos [12]. Asimismo, en otro estudio en el que se introdujo un nuevo delineador de onda P, se reportó una mejora significativa en los resultados obtenidos tras reanotar manualmente los registros de la BDQT [13].

Las anotaciones defectuosas no son la única fuente de error que afecta a la evaluación de los métodos automáticos de delineación. En casos donde se adoptaron criterios de anotación diferentes incluso para ondas de morfología similar, como el mostrado en la Figura 2, es imposible que un algoritmo automático consiga ser preciso siempre. Por ello, estas situaciones implicarán errores, aunque todas las anotaciones pudiesen ser justificadas como correctas.

También se han recalado los inconvenientes que presenta una referencia anotada mediante una estrategia multiderivación, generando una mayor desconfianza en el resultado que obtenga un método comparado con esta referencia.

Por último, se ha demostrado que la presencia de ruido ha afectado considerablemente al emplazamiento de las anotaciones. Así, el resultado de la localización de los puntos fiduciales para cualquier método automático será distinto en caso de ser aplicado sobre señales con ruido que sin él. De hecho, la delineación automática bajo condiciones de ruido ha proporcionado un mejor resultado, con respecto a las anotaciones manuales de la BDQT, que la misma delineación aplicada sobre los registros limpios de ruido. Esto demuestra que, en muchos casos, un buen delineador capaz de ser completamente inmune al ruido podría verse perjudicado por ello, y otro peor, que acepte erróneamente el ruido como señal real, beneficiado. Es difícil conocer hasta qué punto estas anotaciones desplazadas han podido influir en los delineadores desarrollados en la literatura [9]. Sin embargo, lo que parece ser evidente es que este procedimiento de validación es deficiente, y que su mejora debe ser prioritaria para el desarrollo de métodos de delineación de las ondas del ECG fiables y útiles en la práctica clínica.

6. Conclusiones

En este estudio, se han evidenciado los defectos en las anotaciones manuales de la BDQT, generalmente aceptada para validar delineadores automáticos de ECG. Entre otros, el origen de estos errores es la falta de información sobre el canal específico anotado, la diversidad de criterios durante el proceso de anotación y/o el efecto que la presencia de ruido tuvo en el resultado final de anotación manual de los registros. Este último aspecto se ha cuantificado, demostrando que la relevancia del ruido es significativa y que puede afectar seriamente a los resultados de los diferentes delineadores desarrollados. Por todo ello, para mejorar el desarrollo de delineadores fiables y precisos, así como para poder confiar en su validación, es necesario que las anotaciones manuales de la BDQT sean revisadas y sus re-

gistros limpiados de ruido o que se adopte como referencia otra base de datos alternativa. Ésta debería contar con todas las características que se han señalado en este estudio como deseables: Una base de datos de ECGs extensa que presente una gran variedad de morfologías, con anotaciones manuales precisas sobre señales individuales en las que la influencia del ruido sea mínima.

Agradecimientos

Trabajo financiado por los proyectos TEC2014-52250-R y DPI2017-83952-C3 MINECO/AEI/FEDER, UE.

Referencias

- [1] Sörnmo L, Laguna P. Ch. 6 - the electrocardiogram-a brief background. In *Bioelectrical Signal Processing in Cardiac and Neurological Applications*. Academic Press. ISBN 978-0-12-437552-9, 2005; 411 – 452.
- [2] Moody GB, Mark RG. The impact of the MIT-BIH arrhythmia database. *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine* May 2001;20(3):45–50. ISSN 0739-5175.
- [3] Taddei A, Distanti G, Emdin M, Pisani P, Moody GB, Zeelenberg C, Marchesi C. The European ST-T database: standard for evaluating systems for the analysis of ST-T changes in ambulatory electrocardiography. *European Heart Journal* 1992;13(9):1164–1172.
- [4] Willems JL, Arnaud P, Bommel JHV, Bourdillon PJ, Degani R, Denis B, Graham I, et al. A reference data base for multilead electrocardiographic computer measurement programs. *Journal of the American College of Cardiology* 1987;10(6):1313 – 1321. ISSN 0735-1097.
- [5] Laguna P, Mark RG, Goldberg A, Moody GB. Database for evaluation of algorithms for measurement of QT and other waveform intervals in the ECG. In *Computers in Cardiology*. 1997; 673–676.
- [6] Bollmann A, Husser D, Mainardi L, Lombardi F, Langley P, Murray A, Rieta JJ, et al. Analysis of surface electrocardiograms in atrial fibrillation: techniques, research, and clinical applications. *Europace* Nov 2006;8:911–26.
- [7] Magnani JW, Williamson MA, Ellinor PT, Monahan KM, Benjamin EJ. P-wave indices: current status and future directions in epidemiology, clinical, and research applications. *Circ Arrh and electroph* Feb 2009;2:72–9.
- [8] Rieta JJ, Alcaraz R. The Genesis of the Electrocardiogram (ECG). In *Wiley Encyclopedia of Electrical and Electronics Engineering*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., February 2017; 1–15.
- [9] Beraza I, Romero I. Comparative study of algorithms for ECG segmentation. *Biomedical Signal Processing and Control* April 2017;34:166–173.
- [10] Bora PK, Sinha R, Yadav SK. Electrocardiogram signal denoising using non-local wavelet transform domain filtering. *IET Signal Processing* February 2015;9(1):88–96.
- [11] González F, Alcaraz R, Rieta JJ. Electrocardiographic P-wave delineation based on adaptive slope gaussian detection. In *Computing in Cardiology Conference (CinC)*, volume 44. IEEE, 2017; In press.
- [12] Lenis G, Pilia N, Oesterlein T, Luik A, Schmitt C, Dössel O. P-wave detection and delineation in the ECG based on the phase free stationary wavelet transform and using intracardiac atrial electrograms as reference. *Biomedizinische Technik* 2016;61(1):37–56.
- [13] Martínez A, Alcaraz R, Rieta JJ. Application of the phasor transform for automatic delineation of single-lead ECG fiducial points. *Physiol Meas* 2010;31(11):1467–1485.

Modelado de la Influencia de la Variabilidad de Frecuencia Cardíaca en la Turbulencia del Ciclo Cardíaco

O. Barquero-Pérez¹, S. Cantero¹, R. Goya-Esteban¹, J.L. Rojo-Álvarez^{1,2}, A. García-Alberola³

¹ Departamento Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad Rey Juan Carlos, Fuenlabrada, España, {oscar.barquero, rebeca.goyaesteban, joseluis.rojo}@urjc.es

² Center for Computational Simulation, Polytechnic University of Madrid, Spain

³ Unidad de Arritmias, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España, arcadi@secardiologia.es

Resumen

La Turbulencia del Ciclo Cardíaco (Heart Rate Turbulence, HRT) es un fenómeno fisiológico que permite obtener índices utilizados como criterio de estratificación de riesgo cardíaco. En la literatura, se ha documentado la relación entre la Variabilidad de Frecuencia Cardíaca (Heart Rate Variability, HRV) y la HRT. Sin embargo, ésta influencia nunca ha sido analizada en tacogramas individuales. El objetivo de este trabajo es proponer un modelo no paramétrico utilizando Boosted Regression Trees. En el modelo de señal propuesto, el parámetro Turbulence Slope (TS) se modela como función de los índices de HRV, incluimos como variables explicativas, la edad, el sexo, el intervalo de acoplamiento y la pausa compensatoria. Durante este trabajo se utilizaron registros de Holter de una base de datos de pacientes que sufrieron Infarto de Miocardio (IM). Los índices de HRV fueron calculados en segmentos de 3 minutos previos a cada complejo ventricular prematuro (ventricular premature complex, VPC). En este trabajo se utilizó BRT, que es una aproximación en la que se agregan un conjunto de pequeños árboles binarios de regresión. La base de datos fue dividida en dos conjuntos: uno con pacientes de alto riesgo, y otro con pacientes de bajo riesgo. Los índices de HRV fueron los más importantes para explicar la respuesta de la HRT en el conjunto de bajo riesgo, mientras que, en el conjunto de alto riesgo, el ritmo cardíaco pocos segundos antes del VPC y la anticipación del ectópico fueron las variables más relevantes.

1. Introducción

La Turbulencia del Ciclo Cardíaco (Heart Rate Turbulence, HRT) es la respuesta fisiológica a un complejo ventricular prematuro (Ventricular Premature Complex, VPC). En sujetos sanos, esta respuesta corresponde a una aceleración inicial, seguida de una deceleración del ritmo cardíaco sinusal. La Variabilidad de Frecuencia Cardíaca (Heart Rate Variability, HRV) refleja la regulación que el Sistema Nervioso Autónomo (SNA) impone sobre el ritmo cardíaco. Ambos, HRT y HRV, se han utilizado ampliamente como potentes predictores para la estratificación de riesgo cardíaco en paciente con enfermedad cardíaca [1,2,3].

En diferentes estudios se ha demostrado que la respuesta de la HRT está influenciada por diversos factores fisiológicos [2]. El ritmo cardíaco afecta a la magnitud de la respuesta HRT, de tal forma que esta se reduce cuando el ritmo cardíaco es alto. La prematuridad del VPC

también influencia la respuesta del HRT. De acuerdo con la fuente barorrefleja del HRT, cuanto más prematuro es el VPC más intensa es la respuesta HRT [4,5]. Asimismo, se ha documentado una influencia del sexo y la edad en la respuesta del HRT [6,7]. Finalmente, existen evidencias de una correlación entre HRT y HRV cuando se estudian en Holters de 24 horas, dado que ambos están bajo la influencia del SNA [8].

En este trabajo, se propone utilizar un modelo no paramétrico de la respuesta de la HRT utilizando boosted regression trees (BRT). Las variables explicativas de dicho modelo serán el ritmo cardíaco inmediatamente anterior al VPC, la prematuridad del VPC, la edad, el sexo y diferentes índices de HRV calculados en el dominio del tiempo. El objetivo es modelar el efecto de la HRV en la HRT utilizando Holters de 24 horas de pacientes que han sufrido un infarto de miocardio (IM).

La estructura del artículo es la siguiente. En la Sección 2, se presenta la forma en que se caracterizarán la HRT y la HRV. En la Sección 3, se explican los modelos BRT. En la Sección 4 se detalla la base de datos. En la Sección 5, se presentan los resultados. Finalmente, en la Sección 6 se presentan las conclusiones del presente trabajo.

2. Heart Rate Turbulence y Heart Rate Variability

La HRT es comúnmente caracterizada mediante dos parámetros, Turbulence Onset (*TO*) y Turbulence Slope (*TS*). Ambos parámetros son clásicamente estimados sobre un tacograma VPC promedio, resultado de obtener la media de todos los tacogramas VPC de un Holter de 24 horas [2]; aunque existen otras aproximaciones para obtener estas caracterizaciones [9, 10]. *TO* caracteriza la aceleración del ritmo cardíaco que ocurre a continuación del VPC, y se define como la diferencia entre el ritmo inmediatamente posterior al VPC y el ritmo inmediatamente anterior al VPC, en porcentaje. *TS* representa la tasa de desaceleración del ritmo cardíaco a continuación de la aceleración inicial de la HRT, y se define como la máxima pendiente positiva de las rectas de regresión obtenidas sobre 5 intervalos RR sinusales dentro de los primeros 15 después del VPC [2].

La HRV se caracteriza, habitualmente, utilizando índices del dominio del tiempo (estadísticos y geométricos), que

se estiman sobre secuencias temporales de intervalos NN obtenidas en Holters de 24 horas. En este trabajo, los índices de HRV del dominio del tiempo se calculan sobre segmentos de intervalos NN de 3 minutos antes de cada VPC individual. Los segmentos cuyo porcentaje de latidos sinusales sea superior al 90%, serán los únicos permitidos. El objetivo es caracterizar el estado del SNA justo antes del VPC. Es común utilizar segmentos de 5 minutos de intervalos NN para caracterizar la HRV, sin embargo, esta aproximación haría que el número de VPCs disponibles en un Holter de 24 se redujese drásticamente, por esto hemos optado por segmentos de 3 minutos. Los siguientes índices estadísticos del dominio del tiempo fueron calculados: AVNN, promedio de todos los intervalos NN; SDNN, desviación estándar de todos los intervalos NN; rMSSD; raíz cuadrada del promedio de las diferencias cuadradas entre intervalos NN adyacentes; SDSD, desviación estándar de las diferencias entre intervalos NN adyacentes. Asimismo, los siguientes índices geométricos fueron calculados: Triangular index, número total de todos los intervalos NN divididos por la altura del histograma de dichos intervalos NN; TINN, anchura de la línea de base de una interpolación triangular para el histograma de intervalos NN.

3. Modelo Boosted Regression Trees

Proponemos modelar la HRT, cuantificada mediante el parámetro T_s , como una función de las siguientes variables explicativas: S_{CL} , (sinus cardiac length), C_I (coupling interval), C_P (compensatory pause), A (age), S (sex), y los siguientes índices del dominio del tiempo de HRV: A_{VNN} , S_{DNN} , R_{MSSD} , S_{DSD} , HRV_{Δ} , T_{INN} :

$$T_s = f(S_{CL}, C_I, C_P, A, S, A_{VNN}, S_{DNN}, R_{MSSD}, S_{DSD}, HRV_{\Delta}, T_{INN})$$

La función, f se aprende utilizando BRT, que es un método de regresión que combina adaptativamente un número elevado de árboles binarios de regresión relativamente simples [11]. Este tipo de modelos se ha utilizado ampliamente para producir modelos predictivos en estudios biológicos y ecológicos [12]. La estimación de la función $f(x)$, se obtiene secuencialmente como sigue:

1. Se iguala $\hat{f} = 0$, y $r_n = T_{s,n}$, para todos los n VPC tacogramas disponibles,
2. Para $b = 1, \dots, B$ repita
 - a. Ajuste un árbol binario de regresión *pequeño*, \hat{f}^b , a los datos $\{x_n, r_n\}$, donde las variables explicativas son x_n y la variable respuesta r_n .
 - b. Actualice \hat{f} sumando una versión reducida del nuevo árbol \hat{f}^b :

$$\hat{f} \leftarrow \hat{f} + \lambda \hat{f}^b$$

- c. Actualice los residuos como:

$$r_n \leftarrow r_n - \lambda \hat{f}^b$$

3. Finalmente, la estimación final del modelo es:

$$\hat{f} = \sum_{b=1}^B \lambda \hat{f}^b$$

La principal idea que subyace en los modelos BRT es la de *aprender lentamente*. Cada nuevo *pequeño árbol* (es decir, un árbol con pocos nodos terminales) se ajusta a la parte de la variable respuesta que no es captada por los árboles anteriores, de esta forma la función estimada, \hat{f} , mejora, lentamente, en las zonas en las que los árboles anteriores no funcionaban correctamente [13].

Los modelos de BRT poseen una serie de parámetros libres que han de ser ajustados, a saber, el número de árboles B , el parámetro de contracción λ , que controla el ritmo de aprendizaje, y, finalmente, el número de particiones en cada árbol, que controla la complejidad, así como el orden de interacción entre variables explicativas. Generalmente, los parámetros libres se eligen utilizando el esquema 10-fold Cross-Validation, que es un procedimiento habitual [13].

A diferencia de los árboles binarios de regresión, los modelos BRT pueden ser difíciles de interpretar. Sin embargo, proporcionan una serie de herramientas que ayudan a mejorar la interpretación del modelo, aumentando el conocimiento sobre la relación entre variables explicativas y la variable respuesta. En concreto, se pueden obtener las *importancias relativas* de cada una de las variables explicativas del modelo, por lo que se pueden identificar las más relevantes. También se puede utilizar una herramienta gráfica conocida como *partial dependence plots* (PDP). La *importancia relativa* mide la contribución de cada una de las variables explicativas en el modelo final [11]. Los PDPs permiten cuantificar el efecto de cada una de las variables explicativas sobre la variable respuesta. Adicionalmente, se puede realizar un proceso de *selección de características*, ordenando las características por importancia relativa, ajustando modelos con una variable explicativa menos cada vez y evaluando las prestaciones del modelo en un conjunto de validación. El modelo final, por ventura con un número menor de variables, será aquel con menor error en validación. De esta forma, se pueden seleccionar aquellas variables que contribuyen con una significancia estadística a la construcción del modelo final.

4. Bases de Datos

Utilizamos una base de datos de pacientes de MI, con un total de 61 Holters de 24 horas postinfarto (64 ± 9 años, 18 mujeres) que fueron sometidos a revascularización percutánea en el Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca [14].

La base de datos se separó en dos subconjuntos diferentes, a saber, uno denotado como *bajo riesgo*, compuesto por aquellos pacientes con los valores de HRT, $T_s \geq 2.5$ & $T_o \leq 0$, y otro grupo denotado como *alto riesgo*, con los siguientes valores, $T_s < 2.5$ & $T_o > 0$. Estos umbrales para los parámetros de HRT son los comúnmente utilizados en la literatura para identificar el riesgo de muerte súbita cardíaca en pacientes MI [2].

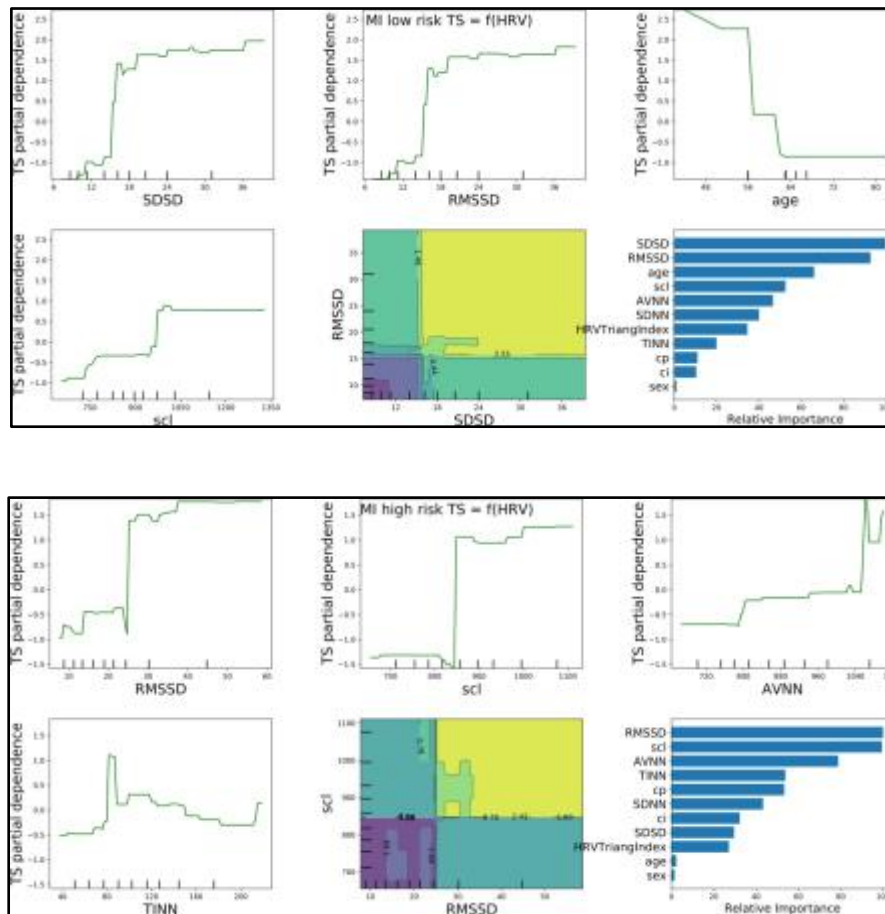


Figura 1. Resumen de los resultados del modelo, *PDPs* (con interacciones de dos variables) e *importancias relativas* del modelo BRT para la HRT, tanto para pacientes de *bajo riesgo* (panel superior), como pacientes de *alto riesgo* (panel inferior).

5. Resultados

En la Figura 1 se muestran las *importancias relativas* y las gráficas *PDP*, tanto para los pacientes del grupo de *bajo riesgo*, como para los pacientes de *alto riesgo* utilizando BRT.

Las tres variables más importantes para el grupo de *bajo riesgo* fueron R_{MSSD} , S_{DSD} y age , mientras que, para el caso del grupo de *alto riesgo*, las variables más importantes fueron S_{CL} , R_{MSSD} , AV_{NN} . Es interesante destacar que, para el caso de pacientes de *bajo riesgo*, las variables más importantes tienen que ver con los índices de HRV y la edad, que miden el estado del SNA en los tres minutos previos al VPC, mientras que, para los pacientes con *alto riesgo*, la variable más importante es aquella que corresponde con el ritmo cardíaco en los 5 latidos previos al VPC. Se puede apreciar, también, una relación no lineal entre T_S y las variables explicativas. En concreto, parece existir un comportamiento de dos estados, de tal forma que, por ejemplo, por debajo de un determinado valor de R_{MSSD} , el valor de T_S es uno, mientras que por encima de ese valor de R_{MSSD} , el parámetro T_S cambia a otro estado, ver Fig. 1 (a) panel arriba a la izquierda.

La Figura 2 muestra las importancias relativas de las variables (características) seleccionadas de forma automática. Como se puede observar, en el caso de los

pacientes de *bajo riesgo*, se seleccionan 4 variables como significativas para la construcción final del modelo, en concreto: R_{MSSD} , S_{DSD} , age y S_{CL} (ver Fig. 2 (a)), mientras que, para el caso de pacientes de *alto riesgo*, se seleccionan 5 variables, en concreto: S_{CL} , R_{MSSD} , AV_{NN} , T_{INN} y C_P .

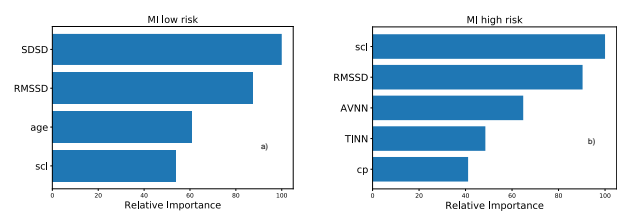


Figura 2. Importancia relativa de las variables después de hacer selección de características utilizando cross-validation, para pacientes de *bajo riesgo* (a), y de *alto riesgo* (b)

6. Conclusiones

En este trabajo se ha propuesto utilizar BRTs para modelar la relación entre el parámetro T_S , que caracteriza la HRT, y las variables S_{CL} , C_I , C_P , Age , Sex y seis índices del dominio del tiempo de HRV. Estos índices se han calculado sobre segmentos de 3 minutos de intervalos NN justo antes del VPC. El modelo se utilizó para estudiar la relación entre la HRV y la HRT en pacientes con MI. El conjunto inicial de pacientes se dividió en dos

subconjuntos, uno de *bajo riesgo* de muerte súbita cardíaca y otro de *alto riesgo*, de acuerdo a criterios de HRT.

Los resultados sugieren que el estado del SNA, en los tres minutos previos al VPC, tiene mayor influencia en la respuesta de HRT para los pacientes de *bajo riesgo*. Por el contrario, en los pacientes de *alto riesgo* el riesgo cardíaco de los 5 latidos previos al VPC fue la característica más importante para explicar la respuesta de la HRT. La relación entre las variables de HRV y la HRT muestran que, en pacientes de *bajo riesgo*, cuanto mayor variabilidad existe más intensa es la respuesta de la HRT. Asimismo, la relación entre edad y HRT es la misma que la reportada en la literatura, esto es, a mayor edad menos intensa es la respuesta de la HRT.

El trabajo futuro debería estar orientado a la incorporación de medidas del SNA más informativas, como, por ejemplo, índices de HRV del dominio de la frecuencia. Esto índices permiten caracterizar el balance simpático-vagal del SNA. Adicionalmente, se puede aligerar la carga de trabajo del modelo de aprendizaje estadístico aliviando el problema de colinealidad entre variables explicativas.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por el proyecto TEC2013-46067-R, TEC2016-75361-R y TEC2016-75161-C2-1-R (Ministerio de Economía y Competitividad, Gobierno de España).

Referencias

- [1] Schmidt G, Malik M, Barthel P, Schneider R, Ulm K, Rolnitzky L, Camm AJ, Bigger JT, Schömig A. Heart-rate turbulence after ventricular premature beats as a predictor of mortality after acute myocardial infarction. *Lancet* 1999; 353(9162):1390–1396.
- [2] Bauer A, Malik M, Schmidt G, Barthel P, Bonnemeier H, Cygankiewicz I, Guzik P, Lombardi F, Müller A, Oto A, Schneider R, Watanabe M, Wichterle D, Zareba W. Heart rate turbulence: standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use: International Society for Holter and Noninvasive Electrophysiology Consensus. *Journal of the American College of Cardiology* 2008; 52(17):1353–1365.
- [3] Camm AJ, Malik M, Bigger J, Breithardt G, Cerutti S, Cohen RJ, Coumel P, Fallen EL, Kennedy HL, Kleiger RE, et al. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. task force of the european society of cardiology and the north american society of pacing and electrophysiology. *Circulation* 1996; 93(5):1043–1065.
- [4] Schwab JO, Shlevkov N, Grunwald K, Schrickel JW, Yang A, Lickfett L, Lewalter T, Lüderitz B. Influence of the point of origin on heart rate turbulence after stimulated ventricular and atrial premature beats. *Basic research in Cardiology* 2004;99(1):56–60.
- [5] Barquero-Pérez Ó, Figuera C, Goya-Esteban R, Mora-Jiménez I, Gimeno-Blanes FJ, Laguna P, Martínez JP, Gil E, Sörnmo L, García-Alberola A, et al. On the influence of heart rate and coupling interval prematurity on heart rate turbulence. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 2017;64(2):302–309.
- [6] Schwab J, Eichner G, Veit G, Schmitt H, Lewalter T, Lüderitz B. Influence of basic heart rate and sex on heart rate turbulence in healthy subjects. *Pacing and clinical electrophysiology* 2004;27(12):1625–1631.
- [7] Schwab J, Eichner G, Shlevkov N, Schrickel J, Yang A, Balta O, Lewalter T, Lüderitz B. Impact of age and basic heart rate on heart rate turbulence in healthy persons. *Pacing and Clinical Electrophysiology* 2005; 28:S198–S201.
- [8] Cygankiewicz I, Wranicz JK, Bolinska H, Zaslonka J, Zareba W. Relationship between heart rate turbulence and heart rate, heart rate variability, and number of ventricular premature beats in coronary patients. *Journal of cardiovascular electrophysiology* 2004;15(7):731–737.
- [9] Rojo Álvarez JL, Barquero-Pérez Ó, Mora-Jiménez I, Everss E, Rodríguez-González AB, García Alberola A. Heart rate turbulence denoising using support vector machines. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. 2009;56(2):310–319.
- [10] Solem K, Laguna P, Martínez JP, Sörnmo L. Model-based detection of heart rate turbulence. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 2008;55(12).
- [11] Hastie T, Tibshirani R, Friedman J. The elements of statistical learning: data mining, inference and prediction. 2 Edition. Springer, 2009.
- [12] Gonçalves P, Risco D, Fernández-Llario P, Barquero-Pérez Ó, Serrano E, Hermoso-de Mendoza J, Mateos C. A new method for ageing wild boar using dental measures. *Ecological Indicators* 2016;62:328–332.
- [13] James G, Witten D, Hastie T, Tibshirani R. An Introduction to statistical learning. Springer, 2013.
- [14] González-Carrillo J, García-Alberola A, Saura D, Carrillo P, López R, Sánchez-Muñoz JJ, Martínez J, Valdés M. Impacto de la angioplastia primaria en la indicación de desfibrilador implantable en pacientes con infarto de miocardio. *Rev Esp Cardiol* 2003;56(12):52–56

Scoring y análisis del sueño con técnicas basadas en la proyección sobre estructuras latentes y aprendizaje automático

A. González Cebrián¹, A.J. Ferrer Riquelme¹

¹ Grupo en Ingeniería Estadística Multivariante (GIEM), Dpto. de Estadística e I.O. Aplicadas y Calidad, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, algonceb@upv.es, aferrer@eio.upv.es

Resumen

En este trabajo se pretende caracterizar el sueño en base a criterios cuantitativos con el fin de llegar a una metodología para el análisis del sueño y el scoring que proporcione resultados repetibles y reproducibles.

Se propone la aplicación de técnicas de proyección sobre estructuras latentes y de aprendizaje automático, con el fin de obtener clasificadores que asignen una fase del sueño a cada tramo de 30 segundos (epoch) empleando información sobre Polisomnografías de pacientes distintos. Para lograrlo se ha realizado previamente una extracción de características basadas en una transformación al espacio tiempo-frecuencia mediante la Transformada Wavelet Discreta (TWD), de cada tramo de 30 segundos (epoch).

Tomando las fases asignadas por un profesional médico como referencia, se han construido y evaluado clasificadores basados en las diferentes técnicas estudiadas, estableciendo una comparación final entre los resultados.

1. Motivación

Las alteraciones del hábito de sueño poseen una alta prevalencia y acarrear disfunciones en procesos fisiológicos básicos. Uno de los pasos críticos para la monitorización y diagnóstico del sueño es su *scoring*, un proceso de análisis mediante el que se asigna una fase del ciclo a cada tramo de 30 segundos (epoch) de la Polisomnografía (PSG). La realización manual basada en un análisis visual de las señales, sin un protocolo cuantitativo que sirva como estándar, conlleva variabilidad inter e intra-profesional en el diagnóstico, además de un gran consumo de tiempo [1], [2].

La integración de sistemas que permitan un *screening* rápido de los registros, o incluso la automatización del análisis visual mediante algoritmos, es uno de los grandes hitos planteados actualmente [3], [4]. Este cambio de paradigma permitiría mejorar la eficacia y eficiencia en la gestión de los trastornos del sueño. Además, esto supondría el abaratamiento del coste y, por tanto, del acceso a estos servicios [5]. Es, por tanto, necesario desarrollar protocolos que contemplen la inclusión de nuevas tecnologías con el fin de aumentar la eficiencia, repetibilidad y reproducibilidad con las que cuenta actualmente.

2. Introducción

En los últimos años se han desarrollado varias metodologías *data-driven* para un análisis rápido y robusto de los registros polisomnográficos.

Una vez registradas las señales, pueden extraerse características de distinta naturaleza en base a las PSGs:

- **Características en el dominio temporal.** Pueden establecerse dos grandes tipos de parámetros: parámetros sobre la morfología de la señal (desde estadísticos clásicos a otros menos comunes [6]) y parámetros sobre la información de la señal (parámetros no lineales o métodos fractales basados en la comparación con señales de nivel de ruido conocido).
- **Características en el dominio espectral.** Explotando la relación conocida entre bandas de frecuencia e información fisiológica, suele emplearse la *Fast Fourier Transform (FFT)* y, posteriormente, pueden calcularse parámetros o gráficos.
- **Características en el dominio tiempo-frecuencia.** Permiten, además de una descomposición en bandas de frecuencia, mantener la información temporal. Algunas opciones son la *Short Time Fourier Transform (STFT)* o la Transformada *Wavelet (TW)*. Sobre las señales transformadas, parámetros que calculen la energía de cada banda de frecuencias en las ventanas temporales son útiles para conocer qué zona del espectro tiene más información de actividad que el resto.

Tras haber calculado las características, pueden emplearse distintas técnicas para la explotación de la información obtenida:

- **Técnicas de aprendizaje automático.** Suelen ofrecer soluciones rápidas en problemas de clasificación, como en este caso es el proceso de asignación de fases del sueño. Sin embargo, dada la naturaleza de estas técnicas (Máquinas de Soporte Vectorial (*SVM*), *K*-Vecinos Más Próximos o Árboles de Clasificación, entre otras), la comprensión de las variables que afectan al modelo, así como las relaciones entre estas y entre las clases, debe inferirse de los propios resultados dado que no se obtiene una formulación del modelo como tal. Es común la selección de variables en base a su importancia dentro del modelo.
- **Técnicas estadísticas clásicas.** En el otro extremo se encuentran herramientas clásicas como los Modelos de Regresión Logística. Sin embargo, su aplicación en contextos como este se ve prácticamente imposibilitada por la propia naturaleza y estructura de los datos, siendo habitual encontrar datos faltantes o

un gran número de variables explicativas con una compleja estructura de correlación, lo que resulta en el cálculo de matrices singulares o mal condicionadas para obtener el modelo. Por estas razones estas técnicas clásicas muestran una capacidad mucho menor que otras técnicas más modernas para modelar procesos o fenómenos complejos.

- **Técnicas basadas en proyección sobre estructuras latentes.** Estas técnicas ofrecen la posibilidad de desentrañar las complejas relaciones existentes dentro de una estructura de datos mediante la identificación de las variables latentes subyacentes. Entre este tipo de técnicas se encuentran el Análisis de Componentes Principales (PCA), y el Análisis Discriminante basado en Mínimos Cuadrados Parciales (PLS-DA). Estas técnicas pueden ser usadas en situaciones con datos faltantes y matrices mal condicionadas (o incluso singulares), a la vez que facilitan la comprensión de los sistemas estudiados, gracias a la reducción del número de variables a considerar (variables latentes).

3. Materiales y métodos

Entre las variantes mencionadas para lograr el objetivo de este trabajo, se ha propuesto el uso de la TW Discreta (TWD) para la **extracción de características** basada en un análisis tiempo-frecuencia. Posteriormente, respondiendo a las necesidades y retos clínicos, se han propuesto **tres metodologías data-driven** para la explotación de las características extraídas.

3.1. Estructura de la Base de Datos

El punto de partida son polisomnografías de 103 pacientes con información de Electroencefalograma (EEG), Electrooculograma (EOG) y Electromiograma (EMG). Esta información se encuentra en forma de ficheros en formato *edf* (European Data Format), un estándar dentro de la comunidad médica para esta clase de archivos. La asignación de las fases del sueño se encuentra en otros ficheros (Figura 1).

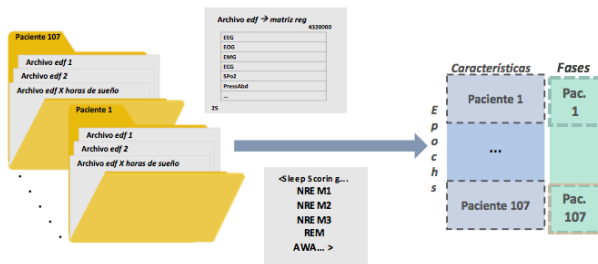


Figura 1. Estructura de la información en su estado inicial, en distintos ficheros y carpetas.

Toda esta información desagregada en distintos ficheros y carpetas debe organizarse en una matriz de observaciones por características o variables explicativas, sobre la cual se aplicarán diversas técnicas de clasificación y análisis.

3.2. Extracción de características basadas en la TWD

Al tratar de aunar en una sola matriz todos los registros surgen limitaciones de memoria y velocidad de procesado debido a que un solo electrodo registra al cabo de la PSG, del orden de millones de datos. En base a la información en el EEG, EOG y EMG, se ha representado cada *epoch* mediante un vector fila de características, sumando la fase del sueño asignada (Figura 2).

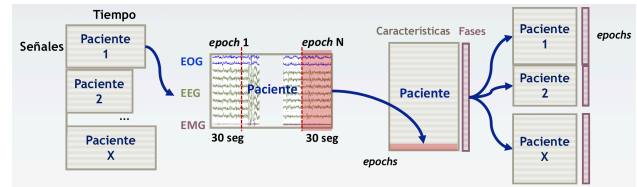


Figura 2. Esquema con los pasos para la extracción de características.

Para esta extracción de características se ha optado por la TWD, una herramienta matemática que, partiendo de una señal temporal, obtiene unas series de coeficientes: L con información de bajas frecuencias y H de altas frecuencias.

Un parámetro a configurar es la elección de la *wavelet* madre (Ψ), una función con cierto comportamiento oscilatorio que es dilatada y trasladada. La elección de las *wavelets* se ha realizado en base a información encontrada en la bibliografía [7]–[9] y el número de niveles de descomposición en base a las frecuencias con información de interés clínico.

El número de elementos de las series de coeficientes iguala la longitud original de la *epoch*, que es del orden de 10^4 datos. Para hacer manejable esta cantidad de información, se ha recurrido al cálculo de la varianza de los coeficientes y de cada una de las *epochs* (Figura 3).

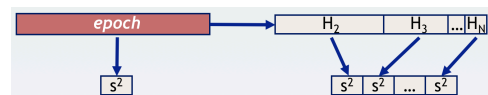


Figura 3. Extracción de características de cada epoch.

Tras aplicar este proceso a cada *epoch* de cada uno de los electrodos para cada paciente, se tiene una base de datos con 78 variables: 77 variables explicativas y una variable respuesta correspondiente a la fase del sueño asignada por un profesional médico. El número final de pacientes es de 38, con un promedio de 900 *epochs* por cada paciente.

3.3. Metodologías propuestas para el análisis del sueño y el scoring

Las soluciones propuestas basadas en técnicas de análisis de datos han sido tres:

- **Análisis preliminar de la base de datos.** Es aconsejable comprobar si hay observaciones atípicas o extremas en la base de datos que no deban considerarse. Teniendo en cuenta que se trata de un entorno en el que hay una gran cantidad de datos, se ha considerado el uso de PCA[10] y PLS-DA[11] para realizar un análisis preliminar de los datos con **fin**es básicamente **exploratorios** e **inferenciales**.

Este apartado se ha realizado con el software MVA-GIEM.

- **Scoring automático del sueño.** Con el fin de **reducir el tiempo** del *scoring*, se han comparado los siguientes clasificadores: Árbol de Clasificación, Árbol de Clasificación con selección de variables más importantes tras un Bosque Aleatorio, *K*-Vecinos Más Próximos y Máquina de Soporte Vectorial. Este clasificador se ha denominado **global** debido a que se entrena con datos de unos pacientes para clasificar datos de pacientes totalmente distintos. Los resultados se han evaluado mediante el Área Bajo la Curva *ROC* [12], pudiendo discriminar así el acierto y fallo según fases.
- **Scoring semi-automático del sueño.** Tratando de mejorar los resultados obtenidos con la aproximación previa, este enfoque **individual** es especialmente recomendado cuando la **variabilidad entre pacientes** es elevada. Este método usa los datos del *scoring* manual de cierta parte del sueño de cada paciente para el entrenamiento del clasificador, realizando el *scoring* automático del resto del registro de cada individuo. Para cuantificar cuánto afectaría la cantidad de conocimiento incorporado *a priori* por el profesional médico, se ha considerado entrenar con un 70% o un 50% de las *epochs*. Los resultados se han evaluado calculando la tasa de acierto.

4. Resultados

4.1. Análisis preliminar

Tras obtener los modelos PCA y PLS-DA, se han evaluado las posibles observaciones atípicas o extremas con los gráficos de los estadísticos Error Cuadrático de Predicción y T^2 de Hotelling, respectivamente.

En el caso del modelo PCA, con cuatro Componentes Principales (CPs) se explica casi el 80% de la variabilidad en los datos. Para saber con qué variables originales están relacionadas estas componentes, se muestran los siguientes gráficos de pesos o *loadings* (Figura 4).

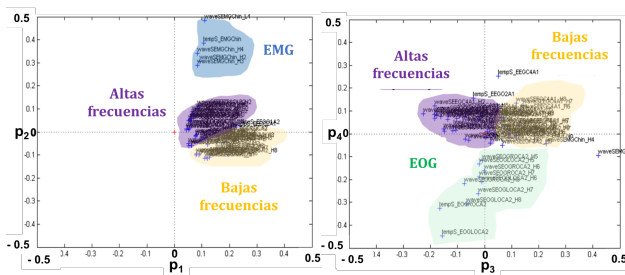


Figura 4. Gráficos de *loadings* para las CP 1 y 2 (izda.) y CP 3 y 4 (dcha.).

En ellos se aprecia relación entre CPs e información médica, teniendo la actividad muscular mayor peso en la segunda CP, la actividad ocular mayor peso en la cuarta, y en base a la tercera CP se distinguen las frecuencias altas y bajas (Figura 4).

En cuando al modelo PLS-DA, su capacidad de predicción de las variables respuesta es globalmente baja

(30% con 6 variables latentes), siendo un poco mejor para para las fases NREM3 (fase III sin movimientos oculares rápidos), REM (fase de movimientos oculares rápidos) y AWA (despierto). Analizando los coeficientes *Jackknife* pueden detectarse las variables estadísticamente significativas para las tres fases del sueño mejor ajustadas por el modelo.

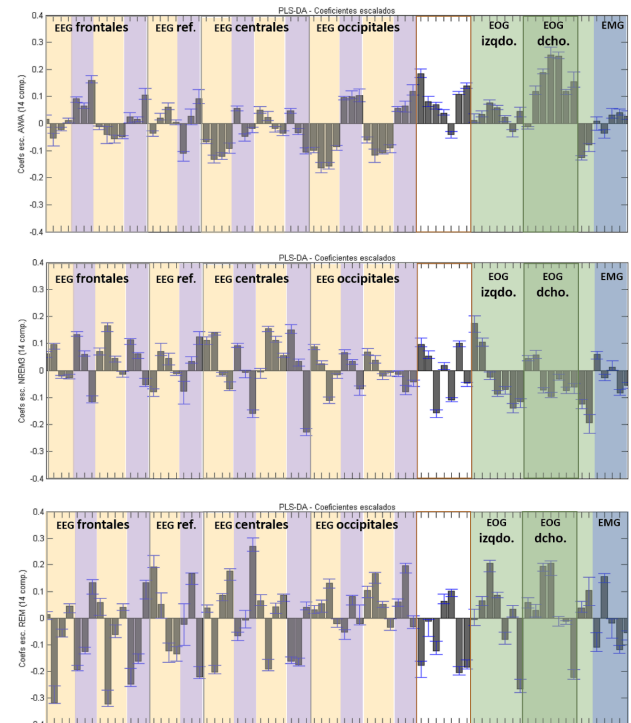


Figura 5. Coeficientes *Jackknife* con la importancia de las variables explicativas para las fases AWA (sup.), NREM3 (med.) y REM (inf.).

En el caso de la fase AWA (superior) tienen peso mayoritario las variables asociadas a la actividad ocular y variables referentes a actividad cerebral registrada en la región occipital, clínicamente relacionada a estados de relajación previos al sueño. Para la fase NREM3 (medio) hay un cambio en la importancia de las variables, especialmente con información de bajas frecuencias (amarillo), clínicamente relacionadas con las fases de sueño profundo. Finalmente, en la fase REM (inferior) vuelve a sobresalir la actividad del EOG y aparecen coeficientes elevados para la actividad cerebral de alta frecuencia (morado), característica de esta fase del sueño.

4.2. Clasificadores globales

Tras realizar un ANOVA sobre el *AUC* teniendo en cuenta los factores Clasificador, Fase del sueño e Iteración (considerado como factor de bloqueo para aumentar la potencia estadística del test), todos ellos resultan estadísticamente significativos con un riesgo de primera especie del 5%. Tras validar el modelo comprobando la homocedasticidad y normalidad de los residuos, se analizan los intervalos LSD para la predicción del *AUC* según los clasificadores y fases (Figura 6).

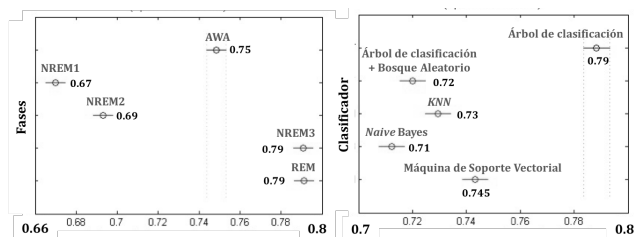


Figura 6. Intervalos LSD del AUC medio predicho para los factores Fase (izda.) y Clasificador (dcha.).

Los mejores resultados han sido entorno al 80% para las fases NREM3, REM y los Árboles de Clasificación, seguidos por un 75% para la fase AWA y las Máquinas de Soporte Vectorial.

4.3. Clasificadores individuales

De la misma forma que se ha explicado para los modelos globales, tras realizar un ANOVA para los factores Clasificador, Paciente y % de Entrenamiento, los tres resultan estadísticamente significativos. Pese a constatarse significativa la importancia del factor Paciente, al analizar los intervalos LSD para la predicción de la tasa de acierto media, se observa, que según el sujeto, esta fluctúa entre un 50% y un 75%. En este caso los mejores resultados son los obtenidos por la Máquina de Soporte Vectorial.

Por otro lado, la diferencia entre emplear un 50% o un 70% de los datos para entrenar supone una diferencia del 1% en la tasa de acierto, mientras que, a nivel de reducción del tiempo empleado, realizar el *scoring* manual de un 50% supondría una reducción del 25% del tiempo empleado.

5. Conclusiones y líneas futuras

Tras haber realizado el trabajo, se ha comprobado que el uso de distintas aproximaciones *data-driven* podría ser beneficioso para mejorar la eficacia y la eficiencia en los trastornos del sueño.

En cuanto al Análisis Preliminar de los datos, se propone PLS-DA como método para un análisis exploratorio e inferencial que permita estudiar la existencia de observaciones atípicas o extremas que no debiesen tenerse en cuenta para la construcción de los clasificadores posteriores.

Para una clasificación que permita obtener resultados repetibles y reproducibles en el *scoring*, se ha comprobado que un clasificador global ofrece tasas de acierto similares al individual, pero reduciendo el tiempo de forma mucho más drástica, pasando de unas 3 horas por análisis de paciente, a solo unos pocos minutos. Los Árboles de Clasificación o Máquinas de Soporte Vectorial han mostrado los mejores resultados.

Por otro lado, quedan aspectos abiertos al estudio en un futuro. Sería también de gran interés el estudio de la influencia del paciente en la clasificación, analizando una posible relación entre patologías y el ajuste de distintos modelos. Se podría considerar el uso de estadísticos

robustos para la detección de observaciones atípicas o extremas, así como probar más clasificadores o características extraídas. Por ejemplo, *kernel*-PLS [13]. permitiría tanto un análisis preliminar exploratorio e inferencial, como la obtención de modelos que reflejen no linealidades en los datos.

Referencias

- [1] R. Boostani, F. Karimzadeh, y M. Nami, «A comparative review on sleep stage classification methods in patients and healthy individuals», *Comput. Methods Programs Biomed.*, vol. 140, pp. 77-91, 2017.
- [2] J. E. Russo, R. R. McCool, y L. Davies, «VA Telemedicine: An Analysis of Cost and Time Savings», *Telemed. e-Health*, vol. 22, n.º 3, pp. 209-215, mar. 2016.
- [3] N. A. Collop *et al.*, «Clinical guidelines for the use of unattended portable monitors in the diagnosis of obstructive sleep apnea in adult patients. Portable Monitoring Task Force of the American Academy of Sleep Medicine.», *J. Clin. Sleep Med.*, vol. 3, n.º 7, pp. 737-47, 2007.
- [4] G. Singh, J. D. Miller, F. H. Lee, D. Pettitt, y M. W. Russell, «Prevalence of cardiovascular disease risk factors among US adults with self-reported osteoarthritis: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey.», *Am. J. Manag. Care*, vol. 8, n.º 15 Suppl, pp. S383-91, oct. 2002.
- [5] N. F. Watson, «Health care savings: The economic value of diagnostic and therapeutic care for obstructive sleep apnea», *J. Clin. Sleep Med.*, vol. 12, n.º 8, pp. 1075-1077, 2016.
- [6] B. Hjorth, «EEG analysis based on time domain properties.», *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.*, vol. 29, n.º 3, pp. 306-10, sep. 1970.
- [7] P. S. Addison, «Wavelet transforms and the ECG: a review», *Physiol. Meas.*, vol. 26, n.º 5, pp. R155-R199, 2005.
- [8] M. Akin, «Comparison of Wavelet Transform and FFT Methods in the Analysis of EEG Signals», *J. Med. Syst.*, vol. 26, n.º 3, pp. 241-247, 2002.
- [9] V. Gerla, K. Paul, L. Lhotska, y V. Krajca, «Multivariate analysis of full-term neonatal polysomnographic data», *IEEE Trans. Inf. Technol. Biomed.*, vol. 13, n.º 1, pp. 104-110, 2009.
- [10] S. Wold, K. Esbensen, y P. Geladi, «Principal component analysis», *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, vol. 2, n.º 1-3, pp. 37-52, ago. 1987.
- [11] P. Geladi y B. R. Kowalski, «Partial Least-Squares Regression: a Tutorial», *Anal. Chim. Acta Elsevier Sci. Publ. B.V.*, vol. 185, pp. 1-17, 1986.
- [12] T. Sing, O. Sander, N. Beerenwinkel, y T. Lengauer, «ROCR: visualizing classifier performance in R», vol. 21, n.º 20, pp. 3940-3941, 2005.
- [13] R. Vitale, O. E. de Noord, y A. Ferrer, «A kernel-based approach for fault diagnosis in batch processes», *J. Chemom.*, vol. 28, n.º 8, pp. 697-707, 2014.

Análisis de diferencias de segundo orden aplicado a la señal de flujo aéreo monocanal para la ayuda al diagnóstico del síndrome de la apnea-hipopnea del sueño en niños

V. Barroso García¹, G.C. Gutiérrez Tobal¹, L. Kheirandish Gozal², D. Álvarez González^{1,3}, F. Vaquerizo Villar¹, R. Romero Oraá¹, A. Crespo Sedano^{1,3}, F. del Campo Matías^{1,3}, D. Gozal², R. Hornero Sánchez¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, veronica.barroso@gib.tel.uva.es

² Section of Sleep Medicine, Dept. of Pediatrics, Pritzker School of Medicine, Biological Sciences Division, The University of Chicago, Chicago, USA, dgozal@peds.bsd.uchicago.edu

³ Servicio de Neumología, Hospital Universitario Río Hortega, Valladolid, España, fsas@telefonica.net

Resumen

Este estudio se centra en el análisis automático de la señal de flujo aéreo monocanal (FA) como ayuda en el diagnóstico del Síndrome de Apnea-Hipopnea del Sueño (SAHS) pediátrico. En concreto, se ha evaluado la utilidad diagnóstica de medidas extraídas de los diagramas de diferencias de segundo orden del FA, y la señal de variabilidad de frecuencia respiratoria (respiratory rate variability, RRV) que se obtiene de la misma. Para ello, se ha contado con 501 registros procedentes de niños de 0 a 13 años. El análisis se ha realizado en tres etapas metodológicas: (i) extracción de características del diagrama de diferencias de segundo orden, (ii) selección de características relevantes y no redundantes empleando el algoritmo fast correlation-based filter (FCBF) y (iii) evaluación de la capacidad diagnóstica conjunta de las medidas mediante 3 clasificadores: regresión logística (RL), linear discriminant analysis (LDA) y quadratic discriminant analysis (QDA). FCBF seleccionó automáticamente características óptimas tanto de FA como de RRV, mostrando la complementariedad de ambas señales. Los modelos fueron entrenados con las características seleccionadas. Para los puntos de corte 1 e/h, 5e/h y 10 e/h, la máxima precisión se alcanzó con el modelo RL (76.9%, 63.4% y 80.5%, respectivamente). Estos resultados sugieren que el análisis de la señal de FA mediante características de los diagramas de diferencias de segundo orden es de utilidad para ayudar a identificar el SAHS en sujetos pediátricos de acuerdo con los diferentes grados de severidad de la enfermedad.

1. Introducción

El Síndrome de Apnea-Hipopnea del Sueño (SAHS) es un trastorno respiratorio crónico caracterizado por la recurrencia de eventos de apnea (cese completo del flujo de aire) e hipopnea (reducción significativa del flujo de aire) durante el sueño [1]. Esta enfermedad presenta alta prevalencia en los niños, estimándose entre el 1% y el 4% [2]. El SAHS pediátrico tiene graves consecuencias para la salud y calidad de vida de los pacientes, pudiendo afectar al sistema cardiovascular, al sistema nervioso central, así como al desarrollo neurocognitivo de los niños [2]. Por tanto, un diagnóstico temprano resulta fundamental para permitir un acceso rápido al tratamiento. La polisomnografía nocturna (PSG) es el método de referencia para diagnosticar el SAHS pediátrico [1]. Esta prueba implica la monitorización del paciente en una unidad del sueño especializada para

registrar múltiples señales biomédicas. A partir de estos registros se obtiene el índice de apnea-hipopnea (IAH) [3]. Dicho índice, calculado como el número de eventos de apnea e hipopnea por hora de sueño (e/h), es empleado para determinar la presencia y la severidad del SAHS. A pesar de la eficacia de la prueba, la PSG requiere de costosos equipos para adquirir las señales, presenta disponibilidad limitada y es especialmente incómoda para los niños [1]. Por ello, se buscan métodos alternativos de diagnóstico que permitan simplificar el diagnóstico del SAHS infantil y reducir las listas de espera.

Un enfoque común es el análisis de un conjunto reducido de señales biomédicas, como la fotoplestismografía (*photoplethysmography*, PPG), el electrocardiograma (ECG), la saturación de oxígeno en sangre (SpO₂) o el flujo aéreo (FA) [4-7]. En este estudio se propone el análisis automático del FA y de la variabilidad de la frecuencia respiratoria (*respiratory rate variability*, RRV) como alternativa simplificada a la PSG. El FA está directamente involucrado en las definiciones de apnea e hipopnea [8], por lo que la simplificación de la PSG conduce de forma natural a su análisis. La señal RRV se obtiene directamente del FA y es calculada como el tiempo transcurrido entre respiraciones consecutivas [9]. Al igual que en el FA, la presencia de apneas e hipopneas puede causar alteraciones en el RRV. Además, diversos estudios han mostrado la utilidad de estas señales en el diagnóstico del SAHS infantil [6-7]. De acuerdo con estas consideraciones, y en base a la utilidad que los diagramas de diferencias de segundo orden del FA y del RRV han mostrado en el contexto del SAHS pediátrico [7], en este estudio proponemos su utilización en ambas señales para ayudar a diagnosticar el SAHS en niños. Estudios precedentes en el contexto del SAHS se han centrado en la caracterización de los diagramas mediante la única utilización de la medida de la tendencia central (*central tendency measure*, CTM) [7]. Sin embargo, en el presente estudio se parte de la hipótesis de que la caracterización exhaustiva de los diagramas de segundo orden de las señales FA y RRV podría proporcionar información adicional para ayudar en la estimación de la presencia y la severidad del SAHS. Por lo tanto, el objetivo del estudio es evaluar la capacidad diagnóstica de la información proporcionada por el análisis de dichas medidas.

2. Sujetos y señales

La población bajo estudio estaba compuesta por 501 sujetos pediátricos. Todos ellos eran sospechosos de padecer SAHS ya que presentaban síntomas comunes de la enfermedad. Los sujetos realizaron la PSG en la Unidad Pediátrica del Sueño del *Comer Children's Hospital* de la Universidad de Chicago (EE.UU.). El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité Ético y todos los tutores legales de los niños dieron su consentimiento informado.

Los sujetos pediátricos fueron diagnosticados por especialistas médicos siguiendo las reglas de la *American Academy of Sleep Medicine* (AASM) [8]. Aunque no existe un consenso sobre los umbrales que deben ser utilizados para determinar el grado de severidad de SAHS, diversos estudios asocian un $IAH < 1$ e/h con no SAHS, $1 \text{ e/h} \leq IAH < 5$ e/h con SAHS leve, $5 \text{ e/h} \leq IAH < 10$ e/h con SAHS moderado y $IAH \geq 10$ e/h con SAHS severo [10-11]. Así, 1 e/h, 5 e/h y 10 e/h se han escogido como umbrales de decisión para este estudio. La población bajo estudio fue dividida aleatoriamente en grupo de entrenamiento (50%) y grupo de test (50%), para entrenar y validar la metodología propuesta. La tabla 1 muestra los datos demográficos y clínicos de los sujetos pediátricos. No se encontraron diferencias estadísticas en estos datos entre el grupo de entrenamiento y el grupo de test.

La señal de FA usada en este estudio fue adquirida con el termistor durante la realización de la PSG. Su frecuencia de muestreo es la recomendada por la AASM, 100 Hz [8]. Se llevó a cabo una fase de preprocesado para eliminar los artefactos presentes en la señal FA. Con el fin de minimizar las posibles diferencias entre los niños debido al amplio rango de edad (0-13 años), los registros de FA se normalizaron según lo propuesto por Varady et al. [12]. La señal RRV se obtuvo calculando el tiempo entre inspiraciones consecutivas en la señal FA [7,9].

3. Metodología

3.1. Extracción de características

Los diagramas de diferencias de segundo orden son diagramas de dispersión centrados en el origen que representan subsecuencias desplazadas de la serie temporal original: $(x[i+2] - x[i+1])$ vs. $(x[i+1] - x[i])$, donde $x[i]$ es el valor de la serie FA en el instante de tiempo i [13]. Como puede observarse en las figuras 1 y 2, la dispersión de los datos presenta diferencias cualitativas según el grupo de severidad de SAHS. Estos resultados nos han conducido al análisis exhaustivo de los diagramas de diferencias de segundo orden. Para ello, se han extraído características típicas de los diagramas de Poincaré [14-15], aplicados sobre los diagramas de diferencias de segundo orden de los registros de FA y RRV. Los diagramas de Poincaré muestran gráficamente la correlación entre intervalos de tiempo consecutivos [14-15]. Las medidas basadas en la geometría de estos diagramas permiten cuantificar la variabilidad a corto plazo, a largo plazo y total de la señal. Estas características se calculan mediante [14-15]:

Característica	Todos	Entrenamiento	Test
Sujetos (n)	501	250	251
Edad (años)	6 [3, 9]	6 [4, 8]	6 [3, 9]
Varones (n)	314 (62.67%)	160 (64%)	154 (61.35%)
IMC (kg/m ²)	17.81 [15.75, 22.21]	17.39 [15.57, 21.97]	18.14 [16.11, 22.44]
IAH (e/h)	3.2 [0.95, 8.08]	2.69 [0.77, 7.28]	3.53 [1.37, 9.06]
IAH ≥ 1 (e/h)	367 (73.25%)	170 (68%)	197 (78.49%)
IAH ≥ 5 (e/h)	180 (35.93%)	83 (33.2%)	97 (38.65%)
IAH ≥ 10 (e/h)	104 (20.76%)	48 (19.2%)	56 (22.31%)

Tabla 1. Datos demográficos y clínicos de los sujetos.

- Ajustes de elipses: a partir de X_1 y X_2 que son los ejes X e Y del diagrama rotados $\pi/4$ rad, respectivamente, se mide la dispersión de los puntos alrededor del eje X_1 (SD_1) y del eje X_2 (SD_2), así como la desviación típica total del diagrama y el área de la elipse.
- Técnicas de histograma: la proyección de los puntos del diagrama sobre los ejes X, Y, X_1 y X_2 , forman los histogramas H_x , H_y , H_{x_1} y H_{x_2} , respectivamente. Para cada uno de estos histogramas se calculan los momentos estadísticos del primer al cuarto orden (media, desviación típica, skewness y curtosis) y los tres primeros cuartiles.
- Coeficiente de correlación: se mide la correlación lineal entre $(x[i+2] - x[i+1])$ y $(x[i+1] - x[i])$.
- Cocientes entre las medidas SD_1 y SD_2 .

3.2. Selección de características

Para obtener un subconjunto óptimo entre las características extraídas, se aplicó la metodología *Fast Correlation-Based Filter* (FCBF) [16]. FCBF se basa en la incertidumbre simétrica (symmetrical uncertainty, SU), que es una normalización de la ganancia de información entre dos variables [16]. En primer lugar, las características se ordenan de mayor a menor relevancia (SU más alta con el IAH). Luego, las características consideradas redundantes con respecto a aquellas que son más relevantes son descartadas, obteniendo así un subconjunto óptimo formado por características relevantes y no redundantes entre sí.

3.3. Clasificación

Se utilizaron técnicas convencionales de reconocimiento de patrones para la clasificación binaria, usando los umbrales 1 e/h, 5 e/h y 10 e/h [17]:

- Regresión logística (RL): calcula la probabilidad a posteriori de pertenecer al grupo SAHS negativo ($IAH < \text{umbral}$) o al SAHS positivo ($IAH \geq \text{umbral}$) en función de características introducidas al modelo. Para ello, se estiman los coeficientes del modelo RL mediante el algoritmo de máxima verosimilitud.
- Análisis discriminante lineal (*linear discriminant analysis*, LDA) y análisis discriminante cuadrático (*quadratic discriminant analysis*, QDA): determinan la función discriminante lineal y cuadrática, respectivamente, para las características de entrada y asigna el grupo para el que el discriminante sea mayor.

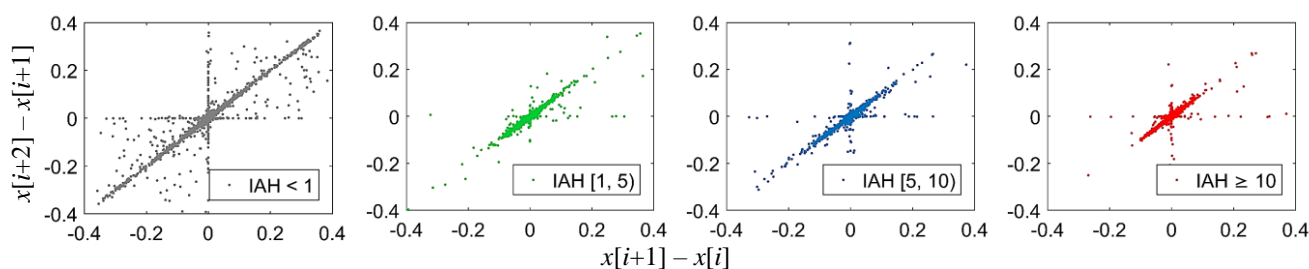


Figura 1. Diagramas de dispersión de la señal de FA para los grupos de severidad IAH < 1, IAH [1,5), IAH [5,10) e IAH ≥ 10.

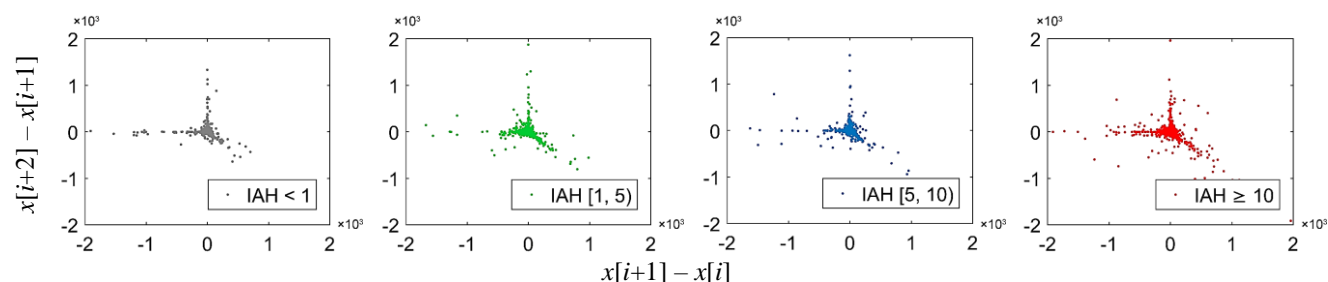


Figura 2. Diagramas de dispersión de la señal de RRV para los grupos de severidad IAH < 1, IAH [1,5), IAH [5,10) e IAH ≥ 10.

3.4. Análisis estadístico

El rendimiento diagnóstico de los modelos RL, LDA y QDA se evaluó en términos de sensibilidad (S), especificidad (E), precisión (P), valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN), razón de verosimilitud positiva (LR+) y razón de verosimilitud negativa (LR-).

4. Resultados

4.1. Grupo de entrenamiento

Las características seleccionadas automáticamente mediante el algoritmo FCBF fueron la media de Hx_2 de FA y la media y el segundo cuartil de Hx_1 de RRV, formando el subconjunto óptimo de entrada a los clasificadores.

4.2. Grupo de Test

Se evaluó el rendimiento diagnóstico de los modelos RL, LDA y QDA, construidos a partir del subconjunto de características óptimo. Los resultados obtenidos para los umbrales 1 e/h, 5 e/h y 10 e/h, se muestran en las tablas 2, 3 y 4, respectivamente.

5. Discusión y conclusiones

En este trabajo se ha evaluado la capacidad diagnóstica de las medidas extraídas de los diagramas de diferencias de segundo orden de las señales FA y RRV para detectar la presencia de SAHS en niños. Para ello, se extrajeron 35 características de FA y 35 características de RRV basadas en la geometría de los diagramas de diferencias de segundo orden. De las 70 características, el método FCBF seleccionó automáticamente una característica de FA (media de Hx_2) y dos de RRV (media y segundo cuartil de Hx_1), poniendo de manifiesto la utilidad de dichos parámetros y la complementariedad de la información extraída de FA y RRV. Los modelos RL, LDA y QDA fueron entrenados con las características seleccionadas. La máxima precisión se alcanzó con el modelo RL para

los 3 puntos de corte (76.9% para 1 e/h, 63.4% para 5e/h y 80.5% para 10 e/h). Con QDA se clasificó correctamente al 81.5% de los sujetos con un IAH ≥ 1 e/h. Así, este modelo podría predecir la presencia de SAHS (IAH ≥ 1 e/h). El modelo LR clasificó correctamente al 96.9% de los sujetos con un IAH < 10 e/h. Si este modelo predice un IAH < 10 e/h, puede descartarse que los sujetos padezcan SAHS severo con una probabilidad del 81.5%. Además, el alto valor de LR+ obtenido con RL para 10 e/h (7.5), implica una alta proporción de sujetos bien clasificados respecto a los sujetos con IAH < 10 mal clasificados. De esta forma, la metodología propuesta podría servir para descartar el SAHS severo.

Diversos estudios han evaluado el uso de un conjunto reducido de señales biomédicas para detectar el SAHS en niños. Shouldice et al. [4] analizaron 50 ECGs y aplicaron técnicas de extracción de características temporales y espectrales junto con QDA, obteniendo una precisión del 84.0% (85.7% S y 81.8% E) para el umbral 1 e/h. Lázaro et al. [5] analizaron 21 PPGs y aplicaron metodología wrapper para la selección de características y LDA como clasificador, obteniendo una precisión del 86.7% (100.0% S y 71.4% E) para 5 e/h. Gutiérrez-Tobal et al. [6], analizaron características espectrales de FA e índices convencionales de SpO_2 procedentes de 50 sujetos. Para el umbral 3 e/h su modelo RL alcanzó una precisión del 86.3% (85.9% S y 87.4% E). Barroso-García et al. [7] analizaron la variabilidad y la irregularidad del FA, extrayendo el CTM y las entropías espectrales de 501 registros. Aplicaron el método de selección *forward stepwise logistic regression* junto con un modelo RL, obteniendo una precisión del 60% para 1 e/h (60.5% S y 58.6% E), 76% para 5 e/h (65% S y 80.6% E) y 80% para 10 e/h (83.3% S y 79% E). De este modo, sólo el trabajo de Barroso-García et al. [7] evalúa su metodología según la severidad del SAHS y emplea un número de sujetos elevado. No obstante, se ha conseguido superar la precisión alcanzada en su estudio para 1 e/h y 10 e/h, sin necesidad de realizar un análisis espectral de la señal.

Clasificador	S (%)	E (%)	P (%)	VPP (%)	VPN (%)	LR+	LR-
RL	98.0	0	76.9	78.1	0	1.0	-
LDA	61.9	0	56.2	77.7	20.2	1.0	1.1
QDA	33.5	72.2	41.8	81.5	22.9	1.2	0.9

Tabla 2. Rendimiento diagnóstico de los clasificadores RL, LDA y QDA para el umbral 1 e/h.

Clasificador	S (%)	E (%)	P (%)	VPP (%)	VPN (%)	LR+	LR-
RL	21.7	89.6	63.4	56.8	64.5	2.1	0.9
LDA	50.5	70.1	62.6	51.6	69.2	1.7	0.7
QDA	29.9	84.4	63.4	54.7	65.7	1.9	0.8

Tabla 3. Rendimiento diagnóstico de los clasificadores RL, LDA y QDA para el umbral 5 e/h.

Clasificador	S (%)	E (%)	P (%)	VPP (%)	VPN (%)	LR+	LR-
RL	23.2	96.9	80.5	68.4	81.5	7.5	0.8
LDA	39.3	87.2	76.5	46.8	83.3	3.1	0.7
QDA	33.9	83.6	72.5	37.3	81.5	2.1	0.8

Tabla 4. Rendimiento diagnóstico de los clasificadores RL, LDA y QDA para el umbral 10 e/h.

Este estudio presenta algunas limitaciones. Aunque el número de sujetos es elevado, con una base de datos aún mayor nuestros resultados serían más generalizables. Además, la proporción de sujetos pertenecientes a cada uno de los cuatro grupos de severidad del SAHS debería estar más balanceada. Con el fin de complementar el análisis basado en medidas extraídas de los diagramas de diferencias de segundo orden e incrementar la capacidad de discriminar los sujetos pediátricos con un IAH ≥ 5 e/h, un análisis complementario de características temporales será objeto de investigaciones futuras. Además, en este estudio no se ha contemplado la severidad del SAHS de los pacientes pediátricos mediante la clasificación multiclasa o regresión del IAH, siendo ésta otra línea de investigación futura.

En resumen, se ha caracterizado la señal FA y RRV mediante medidas basadas en la geometría del diagrama de diferencias de segundo orden, alcanzando un alto rendimiento a la hora de detectar la presencia de SAHS y a la hora de descartar el SAHS severo. Por ello, estos resultados sugieren que el análisis de la señal FA mediante medidas extraídas de los diagramas de diferencias de segundo orden podría ser de utilidad para ayudar a identificar el SAHS pediátrico y su severidad.

Agradecimientos

Este estudio ha sido financiado por la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León y FEDER (VA037U16), el Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO) y FEDER (TEC2014-53196-R y RTC-2015-3446-1), la ‘European Commission’ y FEDER (POCTEP 0378_AD_EEGWA_2_P), y la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica (SEPAR 153/2015). V. Barroso García y F. Vaquerizo Villar son beneficiarios de una ayuda concedida por la Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León y el Fondo Social Europeo. D. Álvarez es beneficiario de un contrato Juan de la Cierva financiado por el MINECO (IJCI-2014-22664).

Referencias

- [1] Marcus CL, Brooks LJ, Ward SD, et al. Diagnosis and management of childhood obstructive sleep apnea syndrome. *Pediatrics*, vol 130, no 3, 2012, pp 714–55.
- [2] Kaditis AG, Alonso-Alvarez ML, Boudewyns A, et al. Obstructive sleep disordered breathing in 2–18 year-old children: diagnosis and management. *Eur Respir J*, vol 47, no 1, 2016, pp 69–94.
- [3] Spruyt K. Pediatric Sleep-Disordered Breathing: Criteria and Spectrum of Disease. En: Kheirandish-Gozal L, Gozal D (Eds). *Sleep Disordered Breathing in Children: A Comprehensive Clinical Guide to Evaluation and Treatment*. Humana Press, 2012, pp 245–60.
- [4] Shouldice RB, O’Brien LM, O’Brien C, et al. Detection of Obstructive Sleep Apnea in Pediatric Subjects using Surface Lead Electrocardiogram Features. *Sleep*, vol 27, no 4, 2004, pp 784–92.
- [5] Lázaro J, Gil E, Vergara JM, et al. Pulse rate variability analysis for discrimination of sleep-apnea-related decreases in the amplitude fluctuations of pulse photoplethysmographic signal in children. *IEEE J Biomed Health Inform*, vol 18, no 1, 2014, 240–6.
- [6] Gutiérrez-Tobal GC, Alonso-Álvarez ML, Álvarez D, et al. Diagnosis of pediatric obstructive sleep apnea: Preliminary findings using automatic analysis of airflow and oximetry recordings obtained at patients’ home. *Biomed Signal Process Control*, vol 18, 2015, pp 401–7.
- [7] Barroso-García V, Gutiérrez-Tobal GC, Kheirandish-Gozal L, et al. Irregularity and Variability Analysis of Airflow Recordings to Facilitate the Diagnosis of Paediatric Sleep Apnoea-Hypopnoea Syndrome. *Entropy*, vol 19, no 9, 2017, pp 447.
- [8] Berry RB, Budhiraja R, Gottlieb DJ, et al. Rules for scoring respiratory events in sleep: update of the 2007 AASM manual for the scoring of sleep and associated events. *J Clin Sleep Med*, vol 8, no 5, 2012, pp 597–619.
- [9] Cysarz D, Zerm R, Bettermann H, et al. Comparison of respiratory rates derived from heart rate variability, ECG amplitude, and nasal/oral airflow. *Ann Biomed Eng*, vol 36, 2008, pp 2085–94.
- [10] Tan HL, Gozal D, Ramirez H, et al. Overnight polysomnography versus respiratory polygraphy in the diagnosis of pediatric obstructive sleep apnea. *Sleep*, vol 37, no 2, 2014, pp 255–60.
- [11] Alonso-Álvarez ML, Canet T, Cubell-Alarco M, et al. Consensus Document on Sleep Apnea-Hypopnea Syndrome in Children. *Arch Bronconeumol*, vol 47, sup 5, 2011, pp 2–18.
- [12] Varady P, Micsik T, Benedek S, et al. A novel method for the detection of apnea and hypopnea events in respiration signals. *IEEE Trans Biomed Eng*, vol 49, 2002, pp 936–42.
- [13] Cohen ME, Hudson DL, Deedwania PC. Applying continuous chaotic modeling to cardiac signals. *IEEE Eng Med Biol Mag*, vol 15, 1996, pp 7–102.
- [14] Brennan M, Palaniswami M, Kamen P. Do existing measures of Poincaré plot geometry reflect nonlinear features of heart rate variability? *IEEE Trans Biomed Eng*, vol 48, no 11, 2001, pp 1342–7.
- [15] Piskorski J, Guzik P. Filtering Poincaré plots. *CMST*, vol 11, no 1, 2005, pp 39–48.
- [16] Yu L, Liu H. Efficient feature selection via analysis of relevance and redundancy. *J Mach Learn Res*, vol 5, 2004, pp 1205–24.
- [17] Álvarez D, Kheirandish-Gozal L, Gutiérrez-Tobal GC et al. Automated Analysis of Nocturnal Oximetry as Screening Tool for Childhood Obstructive Sleep Apnea-Hypopnea Syndrome. *Proc 37th Annu Int Conf IEEE-EMBS*, Milán, 2015, pp 2800–3.

Método de Análisis de Ritmos Fisiológicos Basado en Group Lasso

R. Goya-Esteban¹, O. Barquero-Pérez¹, R. García Carretero², A. García-Alberola³, J.L. Rojo-Álvarez^{1,4}

¹ Departamento Teoría de la Señal y Comunicaciones, Universidad Rey Juan Carlos, Fuenlabrada, España, {rebeca.goyaesteban,oscar.barquero, joseluis.rojo}@urjc.es

² Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario de Móstoles, España, rgcarretero@salud.madrid.org

³ Unidad de Arritmias, Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca, Murcia, España, arcadi@secardiologia.es

⁴ Center for Computacional Simulation, Universidad Politécnica de Madrid, España

Resumen

Los ritmos fisiológicos surgen de interacciones no lineales entre mecanismos biológicos y las condiciones ambientales. Habitualmente, se utilizan modelos matemáticos simplificados para caracterizar la dinámica de estos ritmos. Uno de los aspectos más importantes en estos modelos es determinar la significancia estadística de los ritmos presentes en las series temporales.

El objetivo de este trabajo es proponer un método de análisis ritmométrico automático basado en la regresión lineal con regularización norma l_1 (lasso), utilizando como características del modelo de regresión los ritmos fisiológicos. Este tipo de modelos regularizados con norma l_1 poseen soluciones dispersas, lo que permite identificar los ritmos más relevantes. Un ritmo puro de un determinado periodo está compuesto por la suma de un coseno y un seno, por lo que estos forman una estructura grupal natural. Para respetar esta estructura grupal se propone utilizar Group Lasso. Para la selección del parámetro de regularización proponemos utilizar un esquema de validación cruzada que respeta la estructura temporal de los datos. Para probar el método propuesto se utilizaron un conjunto de señales sintéticas compuestas por un conjunto de ritmos sinusoidales y ruido gaussiano añadido. Así mismo se exploró el funcionamiento del método en un conjunto de señales reales de ritmo cardíaco (RC) y tensión arterial (TA).

El método propuesto detectó correctamente el 98% de los patrones de ritmo en los datos sintéticos. Así mismo, fue capaz de identificar los ritmos significativos de las señales de RC y TA. Dado que Lasso es el método convexo más cercano al problema de selección de subconjuntos de características, el método propuesto permite la identificación óptima de ritmos presentes en las señales fisiológicas.

1. Introducción

Tal y como ha sido demostrado en muchos estudios, la mayoría de los parámetros biológicos varían ampliamente a diferentes escalas temporales, tanto en condiciones de salud como en enfermedad [1]. Uno de los ejemplos más ampliamente estudiados es el ritmo cardíaco (RC) que oscila con diferentes períodos [1, 2]. Este tipo de ritmos en señales fisiológicas son de interés clínico dado que se encuentran en la literatura estudios que identifican dinámicas diferentes entre individuos sanos y pacientes. Algunos estudios han referido alteraciones de los ritmos circadianos de diferentes variables fisiológicas en pacientes [3–5]. Una posible hipótesis es que los mecanismos fisiológicos de los individuos sanos permiten una mejor adaptación a las variaciones ambientales que

los equivalentes en pacientes enfermos y, quizá, con un agravamiento progresivo en la capacidad de adaptación que podría estar relacionada con la severidad de la patología.

Un posible enfoque para estudiar este problema es por medio de modelos matemáticos simples de los sistemas fisiológicos [6]. Un aspecto fundamental al desarrollar estos modelos es cómo determinar la significancia estadística de los ritmos presentes en las series temporales. En [7], presentamos un análisis basado en *lasso path* para identificar el orden de activación de los ritmos en señales de RC, donde el orden de activación representa la importancia del ritmo. En el presente trabajo, desarrollamos dicho modelo para proponer un método de análisis automático de ritmos basado en modelos de regresión lineal con regularización de norma l_1 (lasso), con los ritmos fisiológicos como características del modelo. Este tipo de modelos lasso poseen soluciones dispersas, es decir, muchos de los coeficientes del modelo son cero. La dispersión en la solución contribuye a identificar los ritmos relevantes. Dado que las componentes coseno y seno de un ritmo puro constituyen una estructura grupal natural, proponemos utilizar modelos *group lasso* [8]. La selección del parámetro libre de regularización se realiza utilizando un método de validación cruzada adecuado, con el objetivo de preservar la estructura temporal de las señales temporales. El método propuesto se evalúa utilizando un conjunto de señales sintéticas que combinan diferentes ritmos sinusoidales con ruido gaussiano añadido. El método también se prueba en señales reales de RC y tensión arterial (TA).

La estructura del trabajo es como sigue. En la Sección 2 se describen las diferentes partes del método propuesto. En la Sección 3 se detallan los experimentos realizados. En la Sección 4 se muestran los resultados. Finalmente, las conclusiones se incluyen en la Sección 5.

2. Métodos

Existe una amplia evidencia de que casi todas las variables biológicas exhiben un comportamiento más o menos periódico. A menudo es útil considerar las series de medidas compuestas por una parte determinista, que puede contener tanto componentes periódicas como

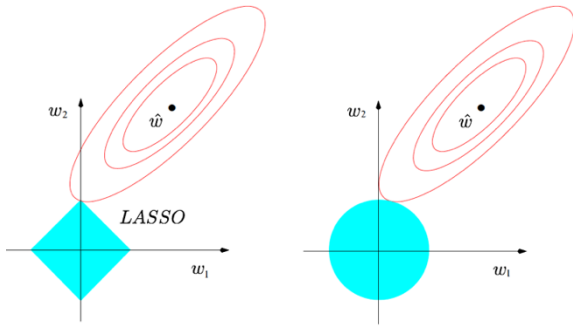


Figura 1 Comparación de las restricciones para la estimación de los pesos entre lasso, norma l_1 , (izquierda) y ridge regression, norma l_2 , (derecha). El punto \hat{w} representa la estimación LS de los pesos sin regularización. Las elipses rojas representan las líneas de contorno de la función de coste y las regiones continuas azules son las regiones asociadas a cada una de las restricciones. Adaptado de [10].

aperiodicas, y una parte aleatoria (considerada ruido) [1]. Proponemos, en este trabajo, un método de análisis ritmométrico basado en modelos de regresión lineal con regularización de norma l_1 , cuyas características sean los ritmos fisiológicos. Proponemos un modelo conocido como group lasso, para mantener la estructura grupal de las componentes coseno y seno de los ritmos puros. Asimismo, se propone elegir el parámetro de regularización mediante un esquema de validación cruzada que preserve la estructura temporal de la serie temporal.

2.1. Análisis ritmométrico con lasso y group lasso

La caracterización conjunta de diferentes ritmos se puede realizar mediante el siguiente modelo de componentes múltiples [1],

$$y_n = M + \sum_i A_i \cos(2\pi f_i t_n + \phi_i) + e_n \quad (1)$$

para $n = 1, \dots, N$

donde M denota la media del ritmo ajustado o MESOR (midline estimating statistic of rhythm), f_i , A_i y ϕ_i representan la frecuencia, la amplitud y la acrofase (el retardo entre un punto de referencia temporal y el máximo de la señal sinusoidal ajustada a los datos) para cada ritmo considerado y, finalmente, N es la longitud de la señal. La variable aleatoria e_n corresponde a la diferencia entre la muestra real observada (y_n) y el valor estimado (\hat{y}_n). La estimación de los parámetros del modelo se puede realizar con el método de mínimos cuadrados (least squares, LS) Sin embargo, típicamente los coeficientes obtenidos con LS serán todos diferentes de cero, lo que complica la interpretación del modelo resultante.

En cambio, podemos restringir el proceso de estimación utilizando regularización de norma l_1 . Como consecuencia algunos coeficientes serán cero, dando lugar a modelos dispersos [9]. Podemos reescribir la Eq. 1 para expresar el modelo de forma lineal,

$$y_n = M + \sum_i \alpha_i \cos(2\pi f_i t_n) + \beta_i \sin(2\pi f_i t_n) + e_n \quad (2)$$

donde $\alpha_i = A_i \cos(\phi_i)$ y $\beta_i = -A_i \sin(\phi_i)$. Por lo tanto,

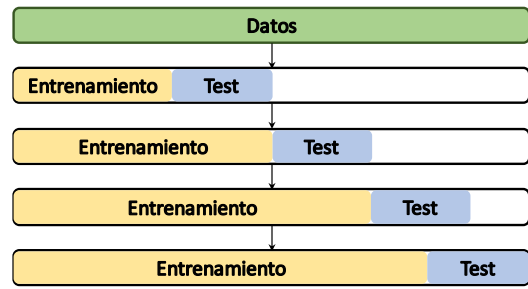


Figura 2 Representación del procedimiento de validación cruzada para series temporales

los senos y cosenos de frecuencias f_i son las características del modelo. Si agrupamos todos los coeficientes de las características en un vector de pesos $\omega = [1, \alpha_1, \dots, \alpha_k, \beta_1, \dots, \beta_k]$, donde k es el número de ritmos, y agrupando todas las características y el MESOR en una matriz X , el modelo ritmométrico puede ser formulado de forma matricial como,

$$y = X\omega + e \quad (3)$$

Los pesos del modelo, ω , pueden ser estimados utilizando LS incluyendo un término de regularización,

$$\hat{\omega} = \operatorname{argmin} \|y - X\omega\|_2^2 + \lambda \|\omega\|_1 \quad (4)$$

donde $\|\omega\|_1 = \sum_{p=1}^{2k+1} |\omega_p|$ es la norma l_1 de ω , y λ es el parámetro de regularización que debe ser especificado por el usuario [10].

La regularización lasso permite controlar el número de pesos activos ($\omega_p \neq 0$), de forma que, si λ es suficientemente grande, algunos de los pesos serán exactamente cero. Esto no se cumple para las normas l_q con $q > 1$ [8], ver Fig. 1. Por lo tanto, podemos utilizar modelos lasso para extraer las características relevantes de las señales [11].

Podemos encontrar modelos de regresión en los cuales las características poseen una estructura grupal natural, en el análisis de ritmos, las componentes seno y coseno de un determinado periodo constituyen un grupo. En estos casos es razonable que todas las características pertenecientes a un mismo grupo se encuentren activas (o inactivas) simultáneamente, esto es, que sus respectivos pesos sean diferentes de cero (o cero) [8].

Si consideramos un modelo de regresión lineal con J grupos de características, donde para $j = 1, \dots, J$, el vector Z_j agrupa las características del grupo j , y θ_j representa el conjunto de coeficientes de regresión para el grupo j . Reuniendo todos los grupos en una matriz Z , el modelo puede ser formulado de forma matricial,

$$y = Z\theta + e \quad (5)$$

Group lasso resuelve el siguiente problema convexo,

$$\hat{\theta} = \operatorname{argmin} \|y - Z\theta\|_2^2 + \lambda \|\theta\|_2 \quad (6)$$

donde $\|\theta\|_2 = \sum_{j=1}^J \|\theta_j\|_2$ es la norma l_2 de θ . Una consideración importante es que este criterio conlleva la suma de normas l_2 , en lugar de normas l_2 al cuadrado (ridge regression). De forma que esta formulación

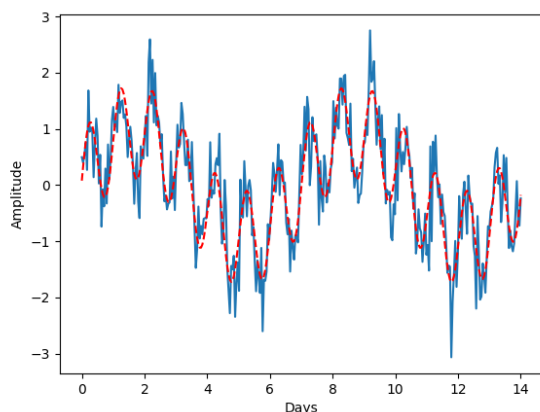


Figura 3. Ejemplo de señal sintética (línea continua azul) creada como combinación de un ritmo de periodo 24 horas, un ritmo de periodo 7 días y ruido gaussiano. La señal resultante posee una SNR de 6 dB. El modelo ritmométrico resultante obtenido con el método propuesto (línea roja discontinua).

impone una restricción global l_1/l_2 sobre el conjunto total de coeficientes. La consecuencia de esta restricción de grupo es que se seleccionan todas las características de un grupo para estar (o no) en el modelo resultante. Así mismo, dentro de un grupo de características (si es seleccionado) los coeficientes se obtienen mediante estimación LS.

2.2 Validación Cruzada para Series Temporales

Con el objetivo de seleccionar el parámetro de regularización λ , implementamos un esquema de validación cruzada capaz de preservar la estructura temporal de las señales.

Las series temporales se caracterizan por la correlación entre observaciones que se encuentran cercanas en tiempo. Las técnicas habituales de validación cruzada asumen que las observaciones son independientes e idénticamente distribuidas, por lo tanto, aplicar estas técnicas a series temporales da lugar a una correlación entre los conjuntos de entrenamiento y test que deriva en una pobre capacidad de generalización de los modelos.

Una aproximación razonable consiste en evaluar el modelo en observaciones futuras de la serie temporal. En este trabajo utilizamos una variación de la técnica de validación cruzada k -fold, donde las primeras k -fold son utilizadas como conjunto de entrenamiento y la $k+1$ fold como conjunto de test [12]. En este estudio hemos considerado cada fold igual a una muestra de la señal temporal. De esta forma, en la primera iteración del algoritmo (ver Fig. 2), las l primeras muestras de la señal conforman el conjunto de entrenamiento y la muestra $l+1$ el de test. En la iteración m , las primeras $l+m-1$ muestras pasan a ser el conjunto de entrenamiento y la muestra $l+m$ el de test. Las iteraciones finalizan cuando $l+m = N$. La elección del valor de l depende de aspectos computacionales del algoritmo, así como de la longitud y frecuencia de muestreo de la señal.

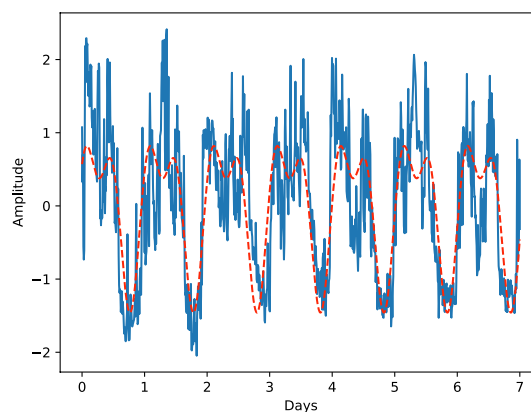


Figura 4. Ejemplo de una señal real de RC (línea continua azul). El modelo ritmométrico resultante obtenido con el método propuesto (línea roja discontinua).

El proceso se repite para un conjunto de valores de λ , seleccionando finalmente el valor del parámetro de regularización que proporciona el mínimo error cuadrático medio.

3. Experimentos

En este trabajo se han considerado los ritmos con periodos de 8, 12 y 24 horas, así como los ritmos de periodos 3.5 y 7 días, como características del modelo. No obstante, podría considerarse cualquier conjunto de ritmos. Con el objetivo de comprobar el funcionamiento del método se crearon 200 señales sintéticas. Cada una de las señales estaba formada por una combinación aleatoria de diferentes componentes sinusoidales (ritmos puros) y ruido gaussiano añadido. Se obtuvieron señales con relaciones señal a ruido (*signal to noise ratio*, SNR) entre 3 y 8 dB. Estas señales sintéticas simulaban la evolución temporal de una determinada variable durante 14 días, con un periodo de muestreo de 1 hora.

La Figura 3 muestra un ejemplo de una señal sintética creada como la combinación de una componente sinusoidal de periodo 24 horas, una componente sinusoidal de periodo 7 días y ruido gaussiano. La señal resultante posee una SNR de 6 dB (línea continua azul).

Adicionalmente el método se evaluó cualitativamente en dos conjuntos de señales cardíacas. Un conjunto de cuatro señales de RC obtenidas a partir de registros Holter de 7 días recogidos en la Unidad de Arritmias del Hospital Virgen de la Arrixaca de Murcia [2]. Las señales utilizadas en este trabajo fueron obtenidas como el RC medio de cada 10 minutos a lo largo de 7 días. La Figura 4 presenta un ejemplo de una señal real de RC (línea continua azul). Se utilizó también un segundo conjunto de cuatro señales reales, recogidas en la Unidad de Medicina Interna del Hospital Universitario de Móstoles. Estas señales presentan la evolución de la TA durante 24 horas. La Figura 5 presenta un ejemplo de una señal real de TA (línea continua azul).

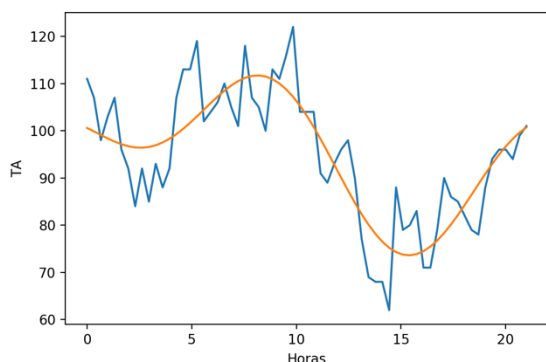


Figura 5. Ejemplo de una señal real de TA (línea continua azul). El modelo ritmométrico resultante obtenido con el método propuesto (línea roja discontinua).

Para seleccionar el parámetro de regularización (ver Sección 2.2), después de una primera inspección en un rango amplio de valores, concentramos la búsqueda de λ en el rango $[0.001,1]$, probando 30 valores logarítmicamente espaciados para cada señal. Finalmente seleccionando aquel valor de λ que proporcionó el mínimo error cuadrático medio. El valor de l , fue fijado a 30 en el caso de las señales sintéticas y las señales reales de TA, y a 140 para las señales reales de RC.

4. Resultados

El método propuesto detectó correctamente el 98% de los patrones de ritmo en las señales sintéticas. Considerando un acierto únicamente cuando hay una coincidencia exacta entre el conjunto completo de ritmos seleccionado por el modelo y los presentes en la señal sintética. La Figura 3 muestra un ejemplo del modelo ritmométrico resultante al aplicar el método propuesto (línea discontinua roja) a la señal sintética (línea continua azul). El método detectó correctamente los dos ritmos (con periodos de 24 horas y 7 días) presentes en la señal ruidosa.

En las señales reales podemos observar cualitativamente que el método es capaz de extraer los ritmos presentes. La Figura 4 muestra el modelo ritmométrico resultante al aplicar el método propuesto (línea discontinua roja) a la señal de RC (línea continua azul), el método detectó ritmos de periodos 24 y 12 horas. La Figura 5 muestra el modelo ritmométrico resultante al aplicar el método propuesto (línea discontinua roja) a la señal de TA (línea continua azul), el método detectó ritmos de periodos 12 y 8 horas.

5. Conclusiones

En este trabajo proponemos un método automático de análisis de ritmos en series temporales basado en lasso o regularización con norma l_1 . Aplicamos el método al análisis de señales cardíacas, pero es fácilmente adaptable para el análisis de cualquier tipo de series temporales. Dado que Lasso es el método convexo más cercano al problema de selección de subconjuntos de características, el método propuesto permite la identificación óptima de ritmos presentes en las señales.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por los proyectos TEC2013-48439-C4-1-R, TEC2016-75161-C2-1-R, TEC2013-46067-R, TEC2016-81900-REDT (Ministerio de Economía y Competitividad, Gobierno de España).

Referencias

- [1] Bingham C, Arbogast B, Guillaume GC, Lee J, Halberg F. Inferential statistical methods for estimating and comparing cosinor parameters. *Chronobiologia*,1982;9(4):397–439.
- [2] Goya-Esteban R, Mora-Jiménez I, Rojo-Álvarez JL, Barquero-Pérez O, Pastor-Pérez FJ, Manzano-Fernández S, Pascual-Figal DA, García-Alberola A. Heart rate variability on 7-day holter monitoring using a bootstrap rhythmometric procedure. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* 2010;57(6):1366–1376.
- [3] Guzzetti S, Dassi S, Pecis M, Casat R, Masu AM, Longoni P, Tinelli M, Cerutti S, Pagani M, Malliani A. Altered pattern of circadian neural control of heart period in mild hypertension. *Journal of Hypertension* 1991;9(9):831–838.
- [4] Touitou Y, Bogdan A, Levi F, Benavides M, Auzéby A. Disruption of the circadian patterns of serum cortisol in breast and ovarian cancer patients: relationships with tumour marker antigens. *British Journal of Cancer* 1996;74(8):1248.
- [5] Burger AJ, Charlamb M, Sherman HB. Circadian patterns of heart rate variability in normals, chronic stable angina and diabetes mellitus. *International Journal of Cardiology* 1999;71(1):41–48.
- [6] Glass L. Synchronization and rhythmic processes in physiology. *Nature* 2001;410(8):277–284.
- [7] Goya-Esteban R, Barquero-Pérez O, Alzueta J, et al. Amulticentric study of long-term rhythm patterns in heart rate. In *Computing in Cardiology Conference (CinC)*, 2016. IEEE, 2016; 909–912.
- [8] Hastie T, Robert T, Martin W. Statistical Learning with Sparsity: The Lasso and Generalizations. *CRC Press*, 2015.
- [9] James G, Witten D, Hastie T, Tibshirani R. An Introduction to statistical learning : With Applications in R. *Springer*, 2014.
- [10] Tibshirani R. Regression shrinkage and selection via the lasso. *Journal of the Royal Statistical Society Series B* 1996;58(1):267–288.
- [11] Efron B, Hastie T, Johnstone I, Tibshirani R. Least angle regression. *The Annals of Statistics* 2004;32(2):407–499.
- [12] Pedregosa F, Varoquaux G, Gramfort A, Michel V, Thirion B, Grisel O, Blondel M, Prettenhofer P, Weiss R, Dubourg V, Vanderplas J, Passos A, Cournapeau D, Brucher M, Perrot M, Duchesnay E. Scikit-learn: Machine learning in Python. *Journal of Machine Learning Research* 2011;12:2825–28.

Modelado II

Viernes, 1 de Diciembre

Diseño de una metodología para el desarrollo de modelos auriculares personalizados

C. Roberto, S. Rocher¹, Á. Alberich², C. Fonfría², L. Martí-Bonmatí², J. Saiz¹

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería, Universitat Politècnica de València, Valencia, Spain

² GIBI230 del IIS, Hospital Universitario y Politécnico La Fe, Valencia, Spain

Resumen

Cuando el tejido auricular cardíaco sufre una fibrilación auricular se produce un remodelado estructural y electrofisiológico en la aurícula. Además, la presencia de fibrosis en este tejido afecta de manera significativa al patrón de conducción eléctrico y a su propagación. Para estudiar las causas de las patologías cardíacas e intentar mejorar los tratamientos, los modelos cardíacos tridimensionales (3D) están demostrando ser una herramienta muy útil, para lo cual deben representar de manera realista y detallada la anatomía cardíaca. El objetivo de este trabajo es diseñar una metodología que permita desarrollar modelos 3D auriculares personalizados que puedan ser empleados en simulaciones electrofisiológicas. Además se incluirá la modelización de las regiones de fibrosis presentes en la aurícula izquierda de los pacientes para otorgarle mayor realismo. Para ello se emplearán imágenes de tomografía axial computerizada (TAC) para obtener la anatomía del modelo e imágenes de resonancia magnética por realce tardío (DE-MRI) para detectar la fibrosis presente en la aurícula izquierda. A continuación se dividirá la malla obtenida en distintas regiones anatómicas auriculares para asignarle a cada una de ellas sus propiedades electrofisiológicas. Finalmente se definirá la orientación de las fibras musculares y se realizarán una serie de simulaciones para comprobar el funcionamiento de los modelos desarrollados. Los resultados de las simulaciones muestran la obtención de unos patrones de conducción y propagación realistas, con lo que se concluye que la metodología implementada es adecuada para el desarrollo de modelos auriculares personalizados.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia auricular sostenida más común, afectando alrededor del 2% de la población mundial [1]. Los mecanismos de generación y mantenimiento de la FA no están totalmente esclarecidos.

Cuando la fibrilación auricular tiene lugar de manera crónica, se producen una serie de cambios estructurales y electrofisiológicos en el tejido auricular. Estos cambios producen una heterogeneidad en las propiedades eléctricas del tejido auricular, por lo que se ve alterado el patrón de conducción y se favorece la aparición y el mantenimiento de reentradas [2].

Por otra parte, distintos estudios previos [3-4] han demostrado una correlación entre la existencia de fibrosis auricular y la FA. No obstante, pese a que estos y otros trabajos muestran de manera convincente dicha relación entre la fibrosis auricular y la FA, debido a la naturaleza compleja e interdependiente de los procesos de remodelación involucrados en la fibrosis, agravada por su distribución heterogénea en toda la aurícula humana, es

difícil lograr experimentalmente aislar los mecanismos únicos por los cuales la fibrosis y sus componentes contribuyen a la FA humana.

Así, un modelo computacional con representación realista de la geometría auricular y la distribución de las lesiones fibróticas presenta una poderosa herramienta para explorar cómo la remodelación fibrótica afecta a nivel de la membrana, a nivel celular y a nivel de tejido y dan lugar a un aumento de sustrato arritmogénico a nivel del corazón. Pero sólo unos pocos grupos de investigación en el mundo disponen de una metodología específica bien trabajada para el desarrollo de modelos personalizados a paciente.

En este trabajo, se diseñará una metodología para conseguir desarrollar modelos auriculares personalizados que representen de manera exacta la anatomía del paciente y la cantidad de fibrosis existente en su aurícula izquierda (AI). La decisión de modelar únicamente la fibrosis existente en la AI responde a que el 94% de los latidos ectópicos que dan lugar a la iniciación de FA se originan en las venas pulmonares (PV) y el 76% de las fuentes de FA (entre ellas los rotors eléctricos) se encuentran en la AI [5]. En la Figura 1 se muestra un esquema de la metodología implementada y utilizada para el desarrollo de los modelos auriculares personalizados.

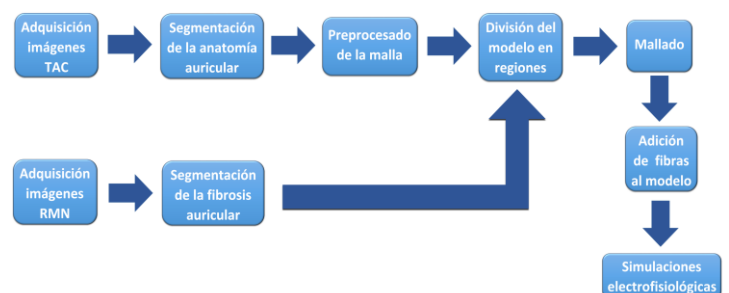


Figura 1. Esquema de la metodología implementada

2. Material y métodos

2.1. Características de las imágenes

Para la realización del estudio se emplearon imágenes de tomografía axial computerizada (TAC) y de resonancia magnética por realce tardío (DE-MRI) correspondientes a dos hombres, de 63 y 44 años de edad, alrededor de los 80 kg de peso y con diagnósticos de FA. En cuanto a las imágenes de TAC, se obtuvieron con el modelo iCT 256 de Philips, usando yodo como agente de contraste y con

unos valores de 0'9 mm de grosor de corte y de 0'4 mm de espacio entre cortes.

Por lo que respecta a las imágenes DE-MRI, se empleó un escáner de Philips de 3 Teslas y una secuencia de viabilidad 3D potenciada en T1. La adquisición tuvo lugar mediante la sincronización con el electrocardiograma del paciente, 10 minutos después de la administración intravenosa de un bolo de contraste de gadobenato dimeglumina en una dosis de 0'2 mmol/kg.

2.2. Segmentación de las imágenes

Para la segmentación de la anatomía auricular se empleó la estación de trabajo Philips Intellispace Portal, y se realizó una segmentación semiautomática, con un posterior ajuste manual para conseguir la anatomía deseada. Posteriormente, las segmentaciones fueron evaluadas y validadas por el radiólogo especialista.

En cuanto a las imágenes DE-MRI, en primer lugar fue necesario registrarlas con las imágenes de TAC correspondientes. La segmentación de la fibrosis presente en las imágenes DE-MRI se llevó a cabo mediante el programa Seg3D®. Para ello se empleó un umbral visual recomendado por el radiólogo especialista.

2.3. División de la malla anatómica de superficie en diferentes regiones anatómicas auriculares

La anatomía auricular presenta heterogeneidades en cuanto a sus características de transmisión del potencial de acción (PA), por ello fue necesario dividir toda la anatomía auricular en diferentes zonas, a fin de añadirle a cada una de ellas sus propiedades electrofisiológicas propias. Para determinar en qué regiones dividir la aurícula, se realizó una simplificación del trabajo de [6], definiendo finalmente un total de 16 regiones: Anillo de la fosa oval (FO), aurícula izquierda (AI), venas pulmonares derechas (RPV), venas pulmonares izquierdas (LPV), apéndice auricular izquierdo (LAA), válvula mitral (VM), seno coronario (CS), aurícula derecha (AD), válvula tricúspide (VT), apéndice auricular derecho (RAA), vena cava superior (SVC), vena cava inferior (IVC), nodo sinoauricular (SAN), cresta terminalis (CT), músculos pectíneos (PM) y haz de Bachmann (BB).

Para delimitar dichas regiones y estructuras auriculares, se empleó por una parte el programa Paraview® para determinar los puntos límites de la región concreta y por otra parte el programa Matlab® para realizar el etiquetado de las zonas asignando valores diferentes a cada región o estructura. El procedimiento consistió en seleccionar una serie de coordenadas límite que servían como frontera de cada una de las determinadas regiones y definir todos aquellos elementos que estuvieran comprendidos entre las coordenadas deseadas como elementos pertenecientes a la misma región. Este paso de la metodología es el único que depende de la anatomía auricular del paciente, ya que las regiones pueden ser ligeramente distintas y experimentar variaciones entre pacientes.

2.4. Generación de la malla volumétrica

Para generar la malla volumétrica de cada paciente a partir del modelo de superficie fue necesario generar un grosor que posteriormente sería mallado. Dicho grosor representa la dualidad epicardio-endocardio auricular. No obstante, a partir de las imágenes médicas de los pacientes no es posible determinar el grosor de la pared auricular. Por ello, se escogió un grosor en base a un compromiso entre el realismo anatómico y el coste computacional. Dicho grosor fue de 0'9 mm.

Una vez se generaron los endocardios correspondientes y se unieron en una única malla, se procedió al proceso de mallado y se introdujeron elementos finitos de volumen hexaédricos irregulares con un tamaño de 0'3 mm. El mallado dio como resultado una malla volumétrica formada por 2.360.736 nodos y 1.887.131 elementos para uno de los pacientes, y otra malla formada por 2.914.102 nodos y 2.330.322 elementos para el otro.

2.5. Adición de la orientación de fibras musculares al modelo

La introducción de la orientación de fibras en un modelo cardíaco 3D consiste en definir una determinada dirección de propagación preferente para cada elemento de la malla volumétrica. Así, al realizar las simulaciones electrofisiológicas sobre el modelo 3D la propagación del impulso eléctrico se producirá de manera preferente en la dirección definida para cada elemento de la malla (anisotropía), emulando de esta forma el comportamiento real del tejido cardíaco.

Para llevar a cabo la asignación de la dirección de fibra a cada una de las regiones en qué se había dividido el modelo, se tuvieron en cuenta los estudios previos de [6] y [7], los cuales se basaron en datos obtenidos de estudios histológicos de aurícula humana [8]. En la Figura 2 se muestra la dirección de fibras asignada a cada una de las regiones del modelo volumétrico generado.

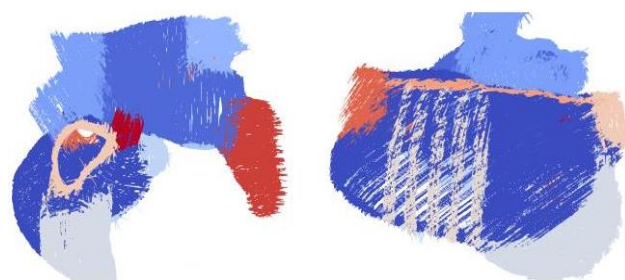


Figura 2. Direccionamiento de fibras de cada una de las regiones delimitadas para uno de los modelos del estudio. Las diferentes zonas se muestran en azul (AI), azul oscuro (AD), azul celeste (válvulas), cian (PV), blanco (RAA), rojo (LAA), granate (BB), naranja (IVC), naranja claro (CT), crema (SVC), marrón (SC), blanquecino (PM). También aparece la FO situada en el interior y el SAN, de pequeña extensión situado a continuación de la CT.

2.6. Simulaciones electrofisiológicas

El modelo matemático empleado para este trabajo fue el modelo iónico de Courtemanche [9] para miocitos auriculares humanos, que fue asociado a cada nodo de la malla a fin de resolver las ecuaciones correspondientes. La elección responde a que este modelo se ha usado ampliamente en la literatura y ha sido validado por numerosos estudios. [6]

Para comprobar el correcto funcionamiento de los modelos desarrollados por la metodología implementada, se realizaron un total de 4 simulaciones para cada uno de los dos modelos desarrollados. Dos simulaciones en ritmo sinusal (ritmo fisiológico cardíaco en condiciones normales), una incluyendo la región de fibrosis segmentada y otra sin incluir. Y otras dos simulaciones (una con fibrosis y otra sin fibrosis) para un ritmo con un patrón de fibrilación auricular crónica (CAF), en la que se ven modificados los canales iónicos y sus conductividades estándar.

El protocolo de dichas simulaciones correspondía a un total de 400 ms de simulación, con un estímulo de 2 ms de duración y 28 pA de intensidad aplicado sobre toda la región del SAN, zona donde se inicia el impulso eléctrico cardíaco de forma natural. Para simular la propagación del PA entre los nodos se utilizó la ecuación (1) de reacción-difusión con un modelo monodominio:

$$\nabla(D\nabla V) = Cm \frac{dV}{dt} + I_{ion} \quad (1)$$

Donde D es el coeficiente de difusión, Cm es la capacidad de membrana e I_{ion} es la suma de las corrientes que pasan a través de la membrana celular.

3. Resultados

Una vez que la segmentación anatómica fue modificada a fin de conseguir la anatomía deseada, esta fue exportada y sometida a una serie de acciones de preprocesado. Por un lado se le realizaron una serie de cortes para delimitar los márgenes anatómicos del modelo e impedir que posteriormente el impulso eléctrico se transmitiera por dichas zonas. A continuación se realizó un proceso de suavizado y refinado de la malla.

En cuanto a la segmentación de la fibrosis presente en las imágenes DE-MRI, el primer paso necesario fue acotar la zona de umbralización a la pared de la AI. Para ello se empleó el programa Seg3D[®]. En este se utilizó el algoritmo Level Set el cual, a partir de una máscara semilla creada por el usuario, va creciendo hasta adaptarse a los contornos de la anatomía deseada. Posteriormente mediante operaciones morfológicas y lógicas se consiguió aislar la pared auricular izquierda. En la Figura 3 se muestra el resultado de la umbralización aplicada a la pared para detectar la fibrosis (en amarillo).

Una vez se disponía por un lado de las mallas correspondientes a la anatomía auricular y por otro de las mallas pertenecientes a la fibrosis, se procedió a dividir el modelo en las diferentes regiones anatómicas, incluyendo la zona de fibrosis. Para ello se emplearon de manera conjunta los programas Paraview[®] y Matlab[®] mediante el

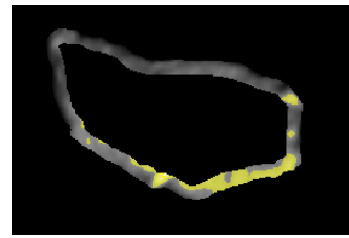


Figura 3. Segmentación de la fibrosis mediante el umbral utilizado con el programa Seg3D para uno de los modelos. Se observa la ROI de la pared de la AI obtenida y en amarillo la zona de fibrosis segmentada.

procedimiento comentado anteriormente. Para determinar si las divisiones realizadas eran correctas, se compararon con la división de regiones del modelo de [7] adaptado en cuanto al número de regiones, ya que este presentaba un número más elevado de regiones anatómicas.

Para asignar la región de fibrosis al modelo anatómico, se empleó Matlab[®]. Con él, se extrajeron los centroides de las mallas de fibrosis correspondientes y posteriormente se etiquetó como fibrosis a aquellos elementos de la malla anatómica más cercanos a los centroides de la malla de fibrosis, con lo que la fibrosis quedaría definida en la malla anatómica justo en la zona sobre la que se encontraba. Para añadir más precisión a esta etapa, se realizó previamente un registro de la segmentación de fibrosis a la segmentación de la anatomía de la AI.

El siguiente paso de la metodología una vez que se realizó el correspondiente mallado, fue la adición de fibras musculares al modelo para cada una de las regiones anatómicas. Para definir el direccionamiento de las fibras se seleccionaron dos puntos a modo de vector en la dirección perpendicular a la dirección de la fibra y a su normal. Por otra parte se calculó la componente normal de cada elemento mediante Matlab[®], y posteriormente se realizó el producto vectorial de ambos vectores, obteniendo el vector directriz. Para valorar la eficiencia del método empleado se realizó la comparación de los resultados obtenidos con muestras de la orientación de fibras del trabajo de [6], cuyo modelo empleado fue validado.

Finalmente se comprobó el correcto funcionamiento de los modelos desarrollados mediante una serie de simulaciones electrofisiológicas. Para comprobar si los protocolos de simulación y los patrones de propagación funcionan correctamente, lo que cabría esperar es que los casos control se despolarizaran ligeramente más rápido que los casos de CAF y se debería observar una repolarización mucho más rápida para las simulaciones CAF. En la Figura 4.A se muestra una comparativa de ambas simulaciones para cada uno de los dos modelos y en el mismo instante de tiempo.

En cuanto al impacto de la región de fibrosis en la segmentación, se definió dicha área como una zona con conductancia nula, por lo que no debería conducir el impulso eléctrico. En la Figura 4.B se observa como efectivamente en aquellas zonas donde está definida la fibrosis (en color rojo) no existe conducción del estímulo eléctrico.

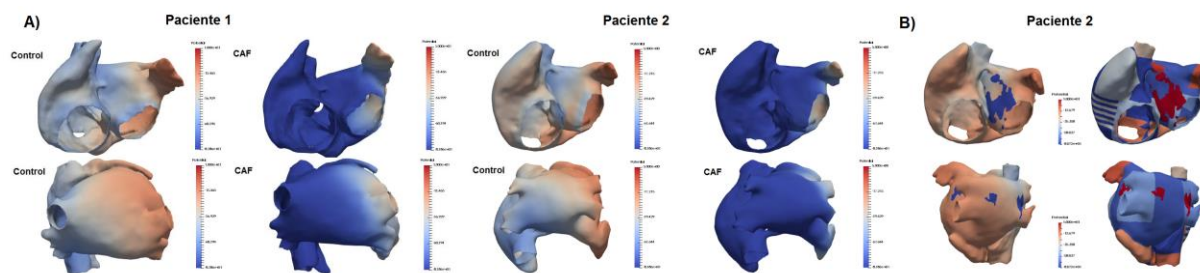


Figura 4. A) Comparativa de la propagación en una simulación electrofisiológica entre condiciones de control (izquierda) y condiciones CAF (derecha) en un mismo instante de tiempo (270 ms) para el paciente de 44 años (paciente 1) y para el de 63 años (paciente 2). B) Resultados obtenidos para la simulación en condiciones de control en el paciente 2 del modelo con la región de fibrosis incluida (izquierda). A la derecha de la imagen se muestran las regiones que fueron etiquetadas como fibrosis (en rojo) en el modelo volumétrico.

Efectivamente, los resultados muestran como para un mismo instante de tiempo, en condiciones de control la aurícula despolariza ligeramente más rápido y alcanza valores de PA más altos. Además, en las condiciones de CAF se aprecia claramente una repolarización más rápida, observándose como prácticamente toda la AI y toda la AD ya se encuentran en condiciones de reposo, mientras que en condiciones de control no es así. Además no se observan diferencias relevantes entre los modelos de cada paciente, por lo que la metodología implementada se considera válida con independencia de las características de cada paciente.

En la Figura 5 se puede observar la comparación de los PA en un mismo instante de tiempo y en las mismas zonas para la situación control y la situación de CAF, observándose como para el caso de CAF los potenciales presentan valores más bajos y unas pendientes de repolarización más pronunciadas, razón por la que llegan con más rapidez a la situación de reposo.

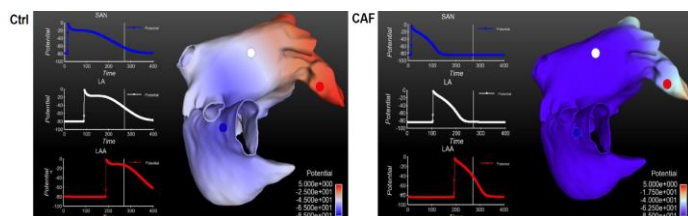


Figura 5. Comparativa de los potenciales de acción obtenidos en distintas zonas de la aurícula en condiciones de control y en condiciones de CAF en un mismo instante de tiempo (270 ms)

4. Conclusiones

Se puede afirmar que la metodología implementada ha conseguido desarrollar correctamente una serie de modelos auriculares 3D personalizados a paciente con un elevado grado de realismo. Además, el correcto funcionamiento de los modelos generados ha sido probado mediante una serie de simulaciones electrofisiológicas que ha proporcionado resultados positivos.

Por otra parte la definición de la región de fibrosis le otorga un grado de originalidad y realismo al modelo en relación al resto de ellos presentes en la literatura.

No obstante, sigue haciendo falta cierta interacción manual para conseguir la construcción de un modelo específico anatómicamente realista y detallado.

Referencias

- [1] Nattel, S. New ideas about atrial fibrillation 50 years on. *Nature*, 415(6868), 2002, pp.219-226.
- [2] McDowell, K., Vadakkumpadan, F., Blake, R., Blauer, J., Plank, G., MacLeod, R. and Trayanova, N. Mechanistic Inquiry into the Role of Tissue Remodeling in Fibrotic Lesions in Human Atrial Fibrillation. *Biophysical Journal*, 104(12), 2013, pp.2764-2773
- [3] Mahnkopf, C., Badger, T., Burgon, N., Daccarett, M., Haslam, T., Badger, C., McGann, C., Akoum, N., Kholmovski, E., Macleod, R. and Marrouche, N. (2010) Evaluation of the left atrial substrate in patients with lone atrial fibrillation using delayed-enhanced MRI: Implications for disease progression and response to catheter ablation. *Heart Rhythm*, 7(10), pp.1475-1481.
- [4] Levy, S. Factors Predisposing to the Development of Atrial Fibrillation. *Pacing and Clinical Electrophysiology*, 20(10), 1997, pp.2670-2674.
- [5] Narayan, S., Krummen, D., Shivkumar, K., Clopton, P., Rappel, W. and Miller, J. Treatment of Atrial Fibrillation by the Ablation of Localized Sources. *Journal of the American College of Cardiology*, 60(7), 2012, pp.628-636.
- [6] Ferrer, A., Sebastián, R., Sánchez-Quintana, D., Rodríguez, J., Godoy, E., Martínez, L. and Saiz, J. Detailed Anatomical and Electrophysiological Models of Human Atria and Torso for the Simulation of Atrial Activation. *PLOS ONE*, 10(11), 2015, p.e0141573.
- [7] Tobón Zuluaga, C. (2010). *Modelización y Evaluación de Factores que Favorecen las Arritmias Auriculares y su Tratamiento Mediante Técnicas Quirúrgicas. Estudio de Simulación* (Tesis Doctoral). Universidad Politécnica de Valencia.
- [8] Ho, S. Atrial structure and fibres: morphologic bases of atrial conduction. *Cardiovascular Research*, 54(2), 2002, pp.325-336.
- [9] Courtemanche M, Ramirez RJ, Nattel S. Ionic mechanisms underlying human atrial action potential properties Insights from a mathematical model. *Am J Physiol*, 1998, 275:H301-H321

Desarrollo de un modelo 3D de la aurícula humana para el estudio de la propagación tisular durante la fibrilación auricular crónica

S. Rocher¹, A. López¹, A. Ferrer¹, L. Martínez¹, D. Sánchez-Quintana², J. Saiz

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España

² Departamento de Anatomía, Universidad de Extremadura, Badajoz, España

Resumen

La fibrilación auricular es la arritmia más frecuente y se estima que en los próximos años su prevalencia aumentará. Aunque no se considera una arritmia maligna, su aparición supone riesgos para la salud del paciente y conlleva recurrentes ingresos hospitalarios. Sin embargo, no se conoce en detalle la fisiopatología de la enfermedad y su tratamiento sigue siendo un tema complejo. En este trabajo se presenta un nuevo modelo de aurícula humana, que incorpora heterogeneidad electrofisiológica, grosor realista de la pared auricular y diferenciación en la orientación de fibras entre el epicardio y el endocardio. El modelo ha sido validado comparando la secuencia de propagación en ritmo sinusal con los tiempos de activación local experimentales. Utilizando dicho modelo, se ha analizado el efecto del remodelado eléctrico en episodios de fibrilación auricular y se ha comparado la actividad fibrilar del nuevo modelo con dos modelos menos detallados anatómicamente. Los resultados obtenidos muestran la utilidad del nuevo modelo auricular para estudiar la propagación tanto fisiológica como patológica. Se demuestra que las propiedades anatómicas influyen en el comportamiento eléctrico de la propagación tisular.

1. Introducción

La fibrilación auricular (FA) es la arritmia sostenida más prevalente. Se caracteriza por una actividad eléctrica rápida, desorganizada e irregular que genera contracciones auriculares no efectivas. Aunque no es directamente mortal debido a que la sangre sigue entrando pasivamente al ventrículo, está asociada a una alta mortalidad porque incrementa el riesgo de padecer accidentes cerebrovasculares e insuficiencia cardíaca [1].

La mayor parte de los pacientes diagnosticados de FA presentan un estado cronificado de la enfermedad (cFA), en el que los episodios de FA son de larga duración y el tratamiento es muy complejo [2]. Esto sucede porque la alta frecuencia de estimulación durante la FA fuerza al sistema cardiovascular a desarrollar varios mecanismos de adaptación que alteran las propiedades auriculares y estabilizan la FA. Este fenómeno se denomina remodelado auricular e incluye cambios eléctricos, estructurales y contráctiles [3].

Actualmente la FA afecta a un 2% de la población mundial, pero se estima que en 2050 la prevalencia aumentará a un 4% por el envejecimiento de la población [4]. Es una cifra alarmante para el sistema de salud ya que los recurrentes ingresos hospitalarios de los pacientes con FA suponen un gran impacto en los presupuestos sanitarios [5].

A pesar de la problemática asociada a la FA, no se conocen en detalle los mecanismos subyacentes a esta patología, los tratamientos existentes no son completamente eficaces y los estudios experimentales disponibles son limitados. Este escenario ha potenciado que en los últimos años se haya desarrollado significativamente la modelización computacional en el campo de la electrofisiología cardíaca, ya que permite estudiar numerosas condiciones de un modo controlable. Existen en la literatura varios modelos computacionales de la aurícula humana que presentan geometrías anatómicas realistas, heterogeneidad electrofisiológica y descripción de la orientación de fibras. Sin embargo, hasta donde sabemos, ninguno de ellos tiene en cuenta la heterogeneidad del grosor de la pared auricular junto con la diferenciación en la orientación de fibras entre el epicardio y el endocardio.

El objetivo de este trabajo es desarrollar un nuevo modelo de la aurícula humana que incorpore grosor y transmuralidad de fibras, con la finalidad de poder analizar más fielmente la propagación tanto fisiológica como patológica.

2. Metodología

En el presente trabajo se desarrolla un nuevo modelo auricular que mejora nuestro modelo previo de aurícula humana [6]. El nuevo modelo mejora la definición anatómica del grosor auricular y la descripción de fibras. El modelo se dividió en 21 regiones, aunque algunas regiones se subdividieron para mejorar la definición de las fibras, resultando en un total de 54 subregiones.

2.1. Definición del grosor auricular

Dada la importancia de la anatomía auricular para comprender los mecanismos de iniciación y mantenimiento de las arritmias, varios autores han analizado en detalle su estructura [7][8][9].

El grosor de la pared de la aurícula derecha (RA) es muy desigual debido a la presencia de la cresta terminal (CT) y los músculos pectíneos (PM). La región más gruesa se encuentra en la parte superior de la CT con un grosor de entre 5 y 8 mm. La pared de la RA se vuelve extremadamente más fina hacia el vestíbulo de la válvula tricúspide (TV), donde alcanza grosores aproximados de 2 mm. El grosor de la pared de la aurícula izquierda (LA) es más uniforme y tiene un grosor medio de 3 mm. Es más gruesa que las paredes de la RA si no se tiene en consideración la región de la CT. La zona con más grosor se encuentra en la pared anterior, con unos 4-5 mm. La región más fina se encuentra en el vestíbulo de la válvula mitral (MV), con un grosor medio de 2 mm [7][8].

Partiendo de nuestro modelo previo, se desarrolló un procedimiento de 5 fases para definir el grosor recopilado en la bibliografía. En primer lugar, dado que el grosor transmural de la pared cardíaca se corresponde a la distancia entre la capa del epicardio y la capa del endocardio, se separaron de la malla de superficie estas dos capas. La distancia inicial entre los nodos de las dos mallas era de entre 600 y 900 μm . Para definir el grosor que le correspondía a cada región, se implementó un algoritmo con el software MATLAB para mover las coordenadas de los nodos hasta alcanzar el grosor anatómico.

Por último, se suavizaron manualmente las mallas resultantes, se unieron y se generó la malla volumétrica con el software MeshGems. Se malló con elementos hexaédricos de una resolución espacial de 300 μm .

2.2. Definición de las fibras

La arquitectura de las fibras musculares de la aurícula tiene un efecto directo en la actividad eléctrica del corazón, ya que influye en la propagación de la onda de excitación.

La aurícula derecha tiene una estructura fibrosa muy compleja que se caracteriza por los abundantes músculos pectíneos, la abrupta cresta terminal y la gran orejuela. Sin embargo, la aurícula izquierda tiene una apariencia más uniforme, pero presenta marcados cambios transmurales en la orientación de las fibras. Los estudios histológicos sugieren que estos cambios están presentes en la pared posterior y en la pared anterior de la aurícula izquierda [9]. En estas dos regiones la pared auricular es una estructura bicapa con fibras dispuestas casi perpendicularmente entre el epicardio y el endocardio. El cambio en el ángulo de las fibras tiene lugar de manera abrupta en la mitad del grosor de la pared [10].

Para poder definir diferentes orientaciones de fibras a nivel epicárdico y endocárdico, se definieron estas dos capas en el modelo auricular. En el epicardio se asignaron

las mismas orientaciones que en nuestro modelo anterior [6]. Se utilizó un algoritmo que calcula la dirección de la fibra como el producto vectorial entre la directriz de la región y la normal de la superficie externa de cada elemento. En el endocardio, se asignó el mismo vector calculado que para el epicardio en los elementos de todas las regiones, excepto en los elementos de la pared posterior y de la pared anterior de la aurícula izquierda. En estas dos regiones se rotó el vector del epicardio 45°.

2.3. Propiedades electrofisiológicas

Las propiedades electrofisiológicas de los modelos computacionales condicionan el comportamiento eléctrico de la simulación. En este estudio se ha utilizado el modelo iónico de Courtemanche, ya que es el modelo que mejor se comporta en condiciones de remodelado auricular. Para reproducir la heterogeneidad en la morfología y la duración del potencial de acción (PA) de las distintas regiones auriculares se modificaron las conductancias máximas de los canales I_{to} , I_{CaL} , I_{Kr} . Los nueve modelos se asignaron a los nodos de la geometría auricular de la región correspondiente. A continuación, se ajustaron las conductividades de los elementos del modelo para definir la propagación del estímulo por el tejido auricular.

Para modelizar el remodelado eléctrico que sufren los canales iónicos de los miocitos auriculares durante los episodios recurrentes de fibrilación auricular (cAF), se modificaron los nueve modelos celulares variando las conductancias máximas de los canales I_{to} , I_{CaL} , I_{K1} , I_{Kur} y I_{Ks} , como en [11].

2.4. Protocolo de estimulación

Para estabilizar el modelo, se aplicó en el nodo sinusal (SAN) un tren de 20 estímulos con una longitud de ciclo base (BCL) de 500 ms, 2 ms de duración y 28 pA de amplitud. Se almacenó el estado del sistema para usarse como punto de partida en las siguientes simulaciones.

Para estudiar y validar el patrón de propagación fisiológico del PA en el nuevo modelo auricular, se aplicó un solo estímulo en el SAN. Para generar la actividad fibrilatoria se aplicó un tren continuo de estímulos durante 6 segundos en el seno coronario a alta frecuencia (BCL=110ms).

2.5. Método Computacional

La propagación eléctrica del PA se describió con el modelo monodominio:

$$\nabla \cdot (D\nabla V) = C_m \cdot \frac{\partial V_m}{\partial t} + I_{ion} \quad \text{en } \Omega_H \quad (2)$$

$$n \cdot (D\nabla V) = 0 \quad \text{en } \partial\Omega_H \quad (3)$$

donde D es el tensor de conductividad, V_m el potencial transmembrana, I_{ion} la suma de las corrientes iónicas del modelo celular, C_m la capacitancia de la membrana y Ω_H el dominio del corazón.

Las ecuaciones del monodominio 1 y 2 se resolvieron usando el método numérico de partición del operador con el software ELVIRA con una resolución temporal de 0.01 ms. Las simulaciones se lanzaron en un nodo de 48 núcleos con procesador 6-core AMD Opteron 6234 a 2.4 GHz.

3. Resultados

3.1. Nuevo modelo auricular

El nuevo modelo 3D de aurícula humana está compuesto por 1.945.101 elementos hexaédricos y 2.174.034 nodos. La aurícula derecha presenta un grosor medio de 3 mm y la aurícula izquierda de 3,4 mm (Figura 1). El rango de valores del grosor para todas las regiones es consistente con los datos experimentales.

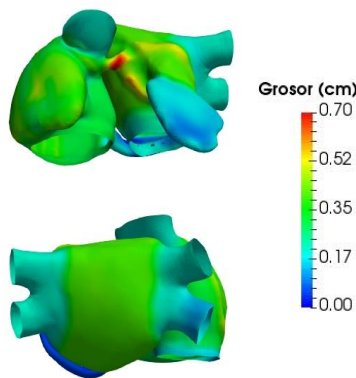


Figura 1. Grosor resultante en el modelo auricular después del suavizado.

El resultado de la estructura bilaminar de las fibras en la pared anterior y posterior de la aurícula izquierda se muestra en la figura 2. En la pared posterior, las fibras en el epicardio descienden perpendicularmente desde la pared superior hacia la válvula mitral y en el endocardio se orientan prácticamente de manera circunferencial desde las venas pulmonares derechas hacia las venas pulmonares izquierdas. En la pared anterior, las fibras en el epicardio se disponen paralelas al septum de la aurícula derecha y en el endocardio descienden desde el Haz de Bachmann hacia la válvula mitral, paralelamente a la posición de la orejuela izquierda.

3.2. Validación del modelo

Para validar el modelo, se ha comparado la propagación en ritmo sinusal del modelo con los tiempos de activación local de Lemery et al. [12]. Los instantes de activación de la simulación se encuentran dentro de los rangos experimentales (Tabla 1).

Después de la despolarización del SAN, las regiones de la aurícula derecha empiezan simultáneamente su despolarización y producen dos frentes de onda que desembocan en la TV. La TV es la última región de la aurícula derecha en activarse a los 80 ms. La activación se

mueve desde la aurícula derecha hacia la aurícula izquierda a través del Haz de Bachmann, registrándose la primera activación de la LA a los 42 ms. Una vez en la LA, se generan dos frentes de onda que despolarizan las diferentes regiones de la aurícula izquierda. Finalmente, la última activación tiene lugar en la vena pulmonar izquierda inferior, a los 131 ms.

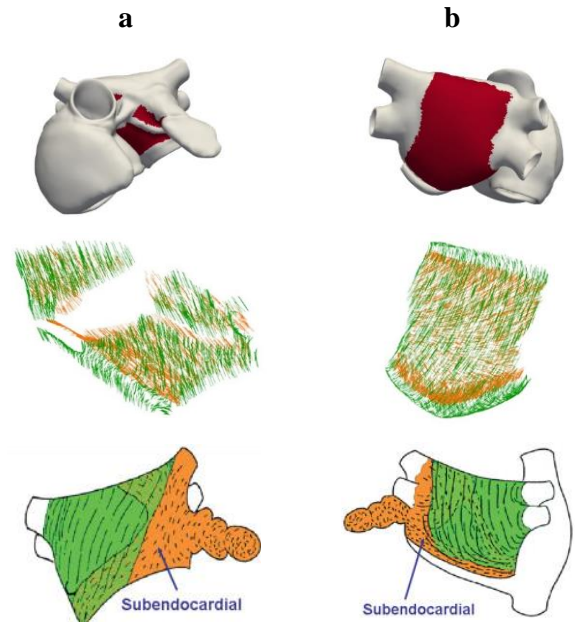


Figura 2. Transmuralidad de fibras en la pared anterior (a) y en la pared posterior (b). La primera fila marca la región en el nuevo modelo, la segunda la dirección de fibras resultante en esa región y la tercera las observaciones de Yen Ho et al. [9].

Secuencia	Modelo (ms)	Lemery (ms)
SAN	0	0
SCV	22	26 ± 22
BBL	37	31 ± 13
FO (RA)	40	45 ± 14
FO (LA)	45	52 ± 15
RAA	42	39 ± 21
IVC	76	88 ± 23
TV	80	87 ± 25
RPV	84	75 ± 24
LPV	108	89 ± 25
Última Activación	131	116 ± 18

Tabla 1. Tiempos de activación de distintas regiones del modelo respecto a los valores experimentales.

3.3. Efectos del remodelado eléctrico

Las modificaciones en las conductancias de los canales iónicos durante el remodelado eléctrico afectan a la morfología y la duración del PA. En todas las regiones del modelo auricular el remodelado acorta la duración del PA (Figura 3). De media, el APD90 se reduce de 266 ms a 116 ms, lo que supone una reducción de un 56%. Este

acortamiento favorece que haya más regiones de la aurícula vulnerables a la iniciación de la FA, dado que es más fácil encontrar el tejido fuera del periodo refractario.

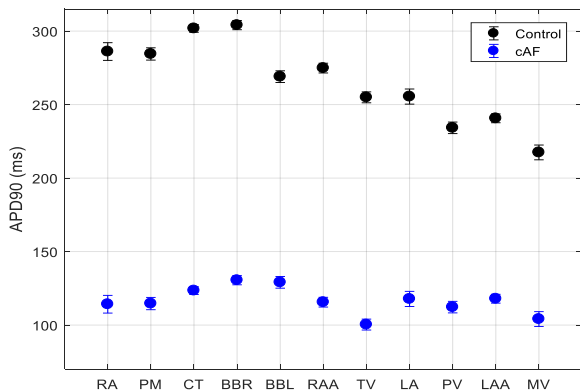


Figura 3. Media del APD90 en diferentes regiones del modelo auricular en control y en remodelado.

3.4. Fibrilación auricular

A partir del modelo estabilizado en remodelado eléctrico, se simuló un episodio de FA. Con el objetivo de analizar el patrón de la fibrilación según las propiedades anatómicas del modelo, se lanzaron tres simulaciones: en nuestro modelo previo con grosor homogéneo (1), en un modelo intermedio con el grosor añadido (2) y en el nuevo modelo auricular (3).

En los tres modelos se observa un patrón de fibrilación recurrente, con la aparición de un rotor. En el modelo 1 el rotor se establece en la vena cava superior, en el modelo 2 el rotor se establece en la vena pulmonar inferior derecha y en el modelo 3 el rotor se establece en la vena pulmonar superior izquierda (Figura 4).

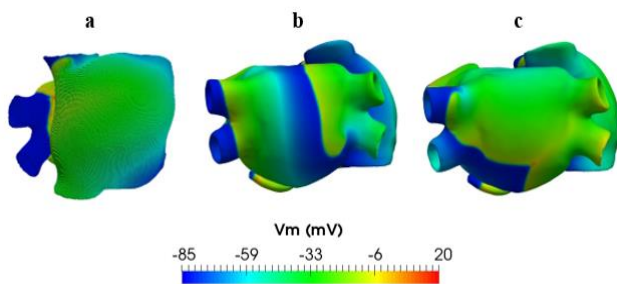


Figura 4. Localización del rotor en el modelo con grosor homogéneo (a), en el modelo con grosor (b) y en el nuevo modelo auricular (c).

4. Conclusión

En este trabajo se presenta un nuevo modelo 3D de la aurícula humana con mejoras importantes respecto a nuestro modelo previo: grosor heterogéneo y transmuralidad de fibras.

Se ha estudiado el efecto del remodelado eléctrico y se ha comprobado que produce un acortamiento de la duración del potencial de acción que favorece los episodios de FA.

Con el modelo en remodelado, se ha conseguido simular la actividad fibrilatoria. Al comparar el patrón de fibrilación del nuevo modelo con dos modelos menos detallados anatómicamente, pero con las mismas propiedades electrofisiológicas, se ha observado un cambio en la actividad eléctrica. Esto indica que las propiedades anatómicas afectan a la propagación auricular y resalta la necesidad de utilizar modelos realistas.

Los resultados obtenidos demuestran el potencial del nuevo modelo para estudiar la propagación tanto fisiológica como patológica. Por lo tanto, puede ser de gran utilidad para progresar en el diagnóstico, la planificación, la evaluación y el tratamiento de arritmias auriculares.

Referencias

- [1] A. C. Guyton and J. E. Hall, *Tratado de fisiología médica*. Elsevier Saunders, 2007.
- [2] M. Wijffels, C. J. Kirchhof, R. Dorland, and M. Allesie, "Atrial Fibrillation Begets Atrial Fibrillation: a study in awake chronically instrumented goats," *Circulation*, vol. 92, no. 7, pp. 1954–1968, 1995.
- [3] U. Schotten, S. Verheule, P. Kirchhof, and A. Goette, "Pathophysiological Mechanisms of Atrial Fibrillation: A Translational Appraisal," *Physiol Rev*, vol. 91, pp. 265–325, 2011.
- [4] J. Andrade, P. Khairy, D. Dobrev, and S. Nattel, "The clinical profile and pathophysiology of atrial fibrillation: relationships among clinical features, epidemiology, and mechanisms," *Circ. Res.*, vol. 114, pp. 1453–1469, 2014.
- [5] E. Grandi and M. M. Maleckar, "Anti-arrhythmic strategies for atrial fibrillation. The role of computational modeling in discovery, development, and optimization," *Pharmacol. Ther.*, vol. 168, pp. 126–142, 2016.
- [6] A. Ferrer *et al.*, "Detailed anatomical and electrophysiological models of human atria and torso for the simulation of atrial activation," *PLoS One*, vol. 10, no. 11, pp. 1–29, 2015.
- [7] D. Sánchez-Quintana, G. Pizarro, J. R. López-Mínguez, S. Y. Ho, and J. A. Cabrera, "Standardized review of atrial anatomy for cardiac electrophysiologists," *J. Cardiovasc. Transl. Res.*, vol. 6, no. 2, pp. 124–144, 2013.
- [8] K. C. Wang, S. Y. Ho, D. G. Gibson, and R. H. Anderson, "Architecture of atrial musculature in humans," *Heart*, vol. 73, no. 6, pp. 559–565, 1995.
- [9] S. Y. Ho and D. Sánchez-Quintana, "The importance of atrial structure and fibers," *Clin. Anat.*, vol. 22, no. 1, pp. 52–63, 2009.
- [10] F. Pashkhanloo *et al.*, "Myofiber architecture of the human atria as revealed by submillimeter diffusion tensor imaging," *Circ. Arrhythmia Electrophysiol.*, vol. 9, no. 4, 2016.
- [11] L. Martínez-Mateu *et al.*, "Factors Affecting Basket Catheter Detection of Real and Phantom Rotors in the Atria: A Computational Study," *PLoS ONE (Man. subm.)*, 2017.
- [12] R. Lemery *et al.*, "Normal Atrial Activation and Voltage During Sinus Rhythm in the Human Heart: An Endocardial and Epicardial Mapping Study in Patients with a History of Atrial Fibrillation," *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*, vol. 18, pp. 402–408, 2007.

Unscented Kalman Filter para el ajuste de parámetros de modelos fenomenológicos de potencial de acción cardíaco

J. Fernandez Bes^{1,2}, D. A. Sampedro Puente^{1,2}, E. Pueyo^{1,2}

1 Grupo BSICoS, I3A, IIS Aragón, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, España, {jfbes, sampedro, epueyo}@unizar.es

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

Resumen

Los modelos fenomenológicos de potencial de acción (AP) permiten reproducir rasgos característicos de la actividad eléctrica de los cardiomiocitos sin describir completamente la biofísica subyacente, por lo que resultan muy útiles para realizar simulaciones electrofísicas de corazón completo. Los métodos existentes para identificar los valores de los parámetros de dichos modelos comúnmente intentan reproducir propiedades específicas del AP en lugar de ajustar la forma de onda completa. En este trabajo proponemos el uso de estimación secuencial basada en filtros Sigma-Point para ajustar dichos parámetros. La metodología propuesta ha sido probada en la estimación de parámetros del modelo fenomenológico Bueno-Cherry-Fenton para replicar los APs generados con otros modelos *in silico*, así como medidos experimentalmente. Con el nuevo método las formas de onda del AP pueden reproducirse con mayor precisión que con los métodos de ajuste de parámetros anteriores y las curvas de restitución de duración de AP concuerdan mejor con datos experimentales disponibles.

1. Introducción

En los últimos años, ha aumentado el interés en el uso de modelos computacionales en investigación cardíaca para complementar las investigaciones experimentales y clínicas. Algunos de estos modelos tienen como objetivo proporcionar descripciones de la electrofisiología celular [1, 2], pero a costa de un alto coste computacional, particularmente para simulaciones a gran escala de la electrofisiología de corazón completo. Por otra parte, los modelos fenomenológicos de potencial de acción (AP, *Action Potential*) [3] permiten reproducir características de la actividad eléctrica de los cardiomiocitos sin describir completamente la biofísica subyacente, por lo que son más adecuados para simulaciones con una alta demanda computacional. Adicionalmente, ajustando algunos de sus parámetros, los modelos fenomenológicos de AP pueden usarse para representar células de muy diferentes características.

Actualmente los métodos utilizados para ajustar los parámetros de los modelos fenomenológicos se basan en optimización no lineal [3, 4] y tratan de replicar ciertas propiedades del AP medidas experimentalmente como duración, amplitud, velocidad de despolarización o restitución. En este estudio se propone una metodología novedosa que permite identificar los valores de los parámetros de los modelos fenomenológicos para reproducir toda la morfología de las formas de onda de AP. Se plantea la hipótesis de que con esta metodología no sólo se puede describir el comportamiento celular con

mayor precisión, sino que también se puede representar mejor la variabilidad entre las células.

La metodología propuesta utiliza un enfoque de estimación secuencial basado en filtros Sigma-Point. Hasta donde sabemos, esta es la primera vez que se utiliza este enfoque para ajustar modelos de AP cardíacos, sin embargo, existen algunas investigaciones relacionadas en la literatura. En [5, 6] se utilizaron métodos de Markov Chain MonteCarlo (MCMC) para estimar las conductancias iónicas de modelos de AP. Nuestra metodología implica una complejidad computacional menor que la utilizada en [5, 6] y además proporciona la estimación de los estados ocultos junto con los parámetros del modelo. Otros enfoques basados en métodos de optimización global, como los algoritmos genéticos, también han sido considerados [7]. Sin embargo, estos esquemas no tienen en cuenta la naturaleza secuencial de los datos de AP y por lo tanto no proporcionan información sobre la dinámica subyacente del modelo.

2. Métodos

2.1. Datos de potencial de acción

Este trabajo se basa en el modelo fenomenológico de AP de Bueno-Cherry-Fenton (BCF) [3]. Dicho modelo está formulado como un sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias de cuatro variables (variables u, v, w, s) con 27 parámetros libres que pueden ser adaptados a diferentes características celulares.

En este estudio se utilizaron trazas de AP generadas con los modelos ventriculares humanos de ten Tusscher-Noble-Noble-Panfilov (TNNP) [1] y O'Hara-Virág-Varró-Rudy (OVVR) [2] para evaluar el rendimiento de nuestra propuesta. Se calcularon 50 ciclos de AP en estacionario estimulando a 1 Hz, en ambos casos. Para la integración numérica se utilizó el método de *Forward-Euler* con un paso de tiempo $\delta_t = 0.02$ ms. Por último, el método se probó en trazas AP experimentales de un miocito ventricular humano aislado (ver [8] para obtener detalles sobre los métodos experimentales).

2.2. Identificación de parámetros

En primer lugar el sistema de ODE se transforma en un modelo de espacio-estado no lineal en tiempo discreto. El modelo de espacio-estado tiene la siguiente forma:

$$\mathbf{x}_k = f(\mathbf{x}_k, \boldsymbol{\omega}) + \mathbf{q}_k \quad (1)$$

$$y_k = \mathbf{u}_k + r_k \quad (2)$$

donde hay cuatro tipos de variables involucradas: variables de estado en el vector $\mathbf{x}_k = [u_k, v_k, w_k, s_k]^T$, variables de ruido (ruido de proceso \mathbf{q}_k y ruido de observación r_k), variable observada y_k (en este caso el AP normalizado u_k contaminado por el ruido de observación) y el vector de parámetros estáticos $\boldsymbol{\omega}$ con elementos $\omega^{(i)}, i \in \{1, \dots, 22\}$. El ruido de observación r_k se supone Gaussiano de media cero y varianza σ_r^2 y en este trabajo el vector de ruido de proceso \mathbf{q}_k es igual a $\mathbf{0}$. En caso de utilizar este método para estimar los valores de parámetros de un modelo estocástico, por ejemplo [4], \mathbf{q}_k podría definirse en consecuencia para representar el proceso de ruido subyacente.

El *Unscented Kalman Filter* (UKF) [9], que pertenece a los denominados filtros Sigma-Point, se propone como método para inferir conjuntamente el vector de variables de estado \mathbf{x}_k y el vector de parámetros $\boldsymbol{\omega}$. Comparado con otros métodos, como el Filtro Kalman Extendido (EKF), UKF es capaz de capturar mejor los momentos de mayor orden y, lo que es más importante, no requiere que las funciones del modelo sean diferenciables. Por otra parte, UKF tiene menor coste computacional que las técnicas basadas en la simulación estocástica, tales como los métodos MCMC [10]. En este estudio, los parámetros del modelo de AP y los estados ocultos que generan los datos son inferidos conjuntamente siguiendo un enfoque de *state augmentation* [10, Capítulo 12]. Específicamente, el vector de estado se extiende con el vector de parámetros y se estima dicho vector aumentado. Para evitar singularidades en la estimación se agrega un pequeño término de ruido $\boldsymbol{\varepsilon}_k$ al vector de parámetros:

$$\mathbf{x}_k = f(\mathbf{x}_k, \boldsymbol{\omega}_{k-1}) + \mathbf{q}_k \quad (3)$$

$$\boldsymbol{\omega}_k = \boldsymbol{\omega}_{k-1} + \boldsymbol{\varepsilon}_k \quad (4)$$

$$y_k = u_k + r_k \quad (5)$$

El ruido $\boldsymbol{\varepsilon}_k$ se asume Gaussiano con media cero y desviaciones estándar $\boldsymbol{\sigma}_\omega$. Como los parámetros tienen rangos dinámicos muy diferentes (ver Tabla 1), se toman unos valores de desviación estándar proporcionales a los valores de los parámetros $\boldsymbol{\sigma}_\omega^{(i)} = \gamma \omega^{(i)}$, donde γ se selecciona para equilibrar una buena tasa de aprendizaje y unas pequeñas oscilaciones en estacionario.

2.3. Evaluación de prestaciones

La capacidad del método para ajustar una traza de AP de entrada se evalúa en términos de la raíz del Error Cuadrático Medio (RMSE), definido como:

$$\text{RMSE} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{n=0}^{N-1} [V(n) - \hat{V}(n)]^2} \quad (6)$$

donde N es el número de muestras usado en el promedio, V es el AP de entrada y \hat{V} el AP calculado con los valores estimados de los parámetros del modelo BCF.

Además, las prestaciones del método se evalúan comparando la curva de restitución S1-S2 de la duración del AP (APD) calculada con los parámetros estimados para el modelo BCF y los datos experimentales de restitución medidos en [11]. Por otro lado las curvas de

Tabla 1 Valor de parámetros del modelo BCF estimados para diferentes datos de entrada.

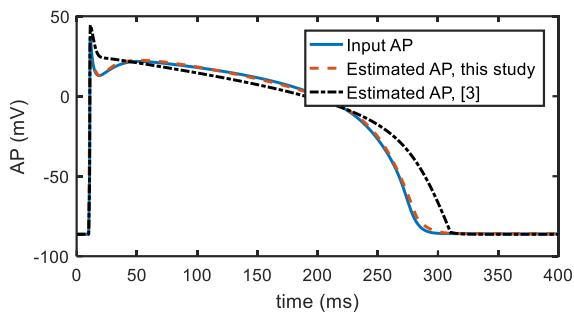
Entrada	TNNP AP	OVVR AP	Exp. AP	
Estimación	Estudio [3]	Este estudio	Este estudio	
τ_{v1}^-	60	59.11	60.19	37.257
τ_{v2}^-	1150	1078	1150	1.026
τ_v^+	1.4506	2.442	2.784	1.822
τ_{w1}^-	70	61.686	59.024	53.268
τ_{w2}^-	20	20.1	15.05	13.089
τ_w^+	280	126.172	108.47	290.83
k_w^-	65	66.41	64.8	83.227
u_w^-	0.03	0.03	0.011	0.042
τ_{fi}	0.11	0.98	0.754	0.987
τ_{o1}	6	307.884	303.31	309.87
τ_{o2}	6	9.532	9.967	9.883
τ_{so1}	43	36.018	47.97	197.694
τ_{so2}	0.2	0.163	0.101	0.122
k_{so}	2	3.397	2.21	1.064
u_{so}	0.65	0.988	0.998	0.375
τ_{s1}	2.7343	2.88	3.01	4.486
τ_{s2}	3	19.619	19.94	2.14
k_s	2.0994	3.688	1.389	1.775
u_s	0.909	0.851	0.998	0.387
τ_{si}	2.872	3.376	3.842	19.693
$\tau_{w\infty}$	0.07	126.172	0.009	0.471
w_∞^*	0.94	0.827	0.787	0.976

restitución S1-S2 de APD calculadas con el modelo TNNP [1] y con el modelo BCF utilizando los valores de parámetros derivados de un estudio anterior [3] también se evalúan a efectos comparativos.

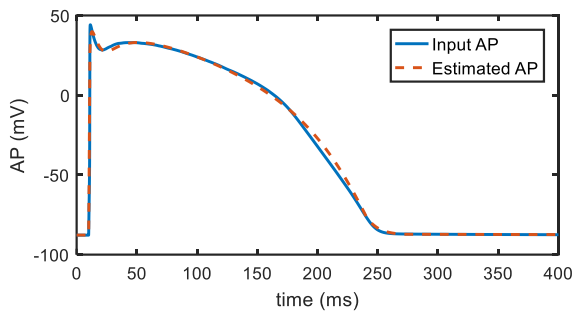
3. Resultados

3.1. Forma del potencial de acción

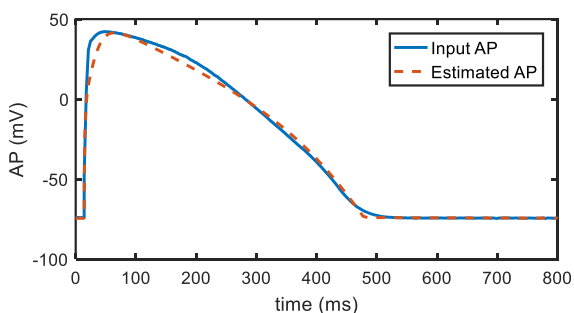
Los valores de los parámetros del modelo BCF que dan lugar a la mejor adecuación de las trazas de AP generadas con los modelos TNNP [1] y OVVR [2], así como los obtenidos experimentalmente de una célula aislada [8], se presentan en la Tabla 1 (tercera, cuarta y quinta columnas). En la segunda columna, se reproducen como referencia para su comparación con el método propuesto, los valores de los parámetros estimados en [3] para el modelo TNNP. Como se puede ver, existen diferencias significativas entre nuestro método y el método propuesto en [3] para algunos parámetros, por ejemplo τ_{fi} o τ_{o1} , mientras que otros parámetros presentan sólo pequeñas diferencias.



(a) Ajuste de traza de AP generada con el modelo TNNP [1].



(b) Ajuste de traza de AP generada con el modelo OVVR [2].



(c) Ajuste a datos experimentales (ver [8])

Figura 1 Trazas de AP de entrada de células humanas ventriculares (azul) y trazas de potencial estimadas usando el modelo BCF con parámetros calculados en este estudio (discontinuo rojo). En (a) los resultados de [3] se presentan como comparativa (negro punteado).

Aunque en la Tabla 1 se presenta simplemente el valor medio de los parámetros estimados con nuestro método basado en UKF, una ventaja adicional de este método es que proporciona medidas de incertidumbre que reflejan la confianza del algoritmo en esos valores. Las trazas de AP calculadas con el modelo BCF utilizando los valores de parámetros estimados se presentan en la Fig. 1(a)-(c) para los tres conjuntos de datos de entrada evaluados. Los valores RMSE correspondientes se muestran en la Tabla 2. Para los datos AP de entrada generados con el modelo TNNP, el RMSE asociado al método propuesto en este estudio es notablemente inferior al RMSE del método utilizado en [3]. Estas diferencias pueden apreciarse en la Fig. 1(a), donde nuestro método proporciona una estimación más fiable de la forma AP de entrada.

Tabla 2 RMSE de los potenciales de acción reproducidos

	TNNP AP		OVVR AP	Exp. AP
	Estudio [3]	Este estudio	Este estudio	Este estudio
RMSE	6.49 mV	1.115 mV	1.572 mV	2.9856 mV

3.2. Curva de restitución de APD

En la Fig. 2 se presentan las curvas de restitución S1-S2 de APD calculadas con el modelo BCF utilizando los conjuntos de valores de parámetros estimados en este estudio y en [3] al ajustar los datos generados con el modelo TNNP. Además, se muestra la curva de restitución calculada con el modelo TNNP y los datos experimentales de Morgan *et al.* [11] usados en [1] para ajustar el modelo. Como puede observarse, nuestro método basado en UKF reproduce los datos experimentales de restitución de APD con mayor precisión que el método utilizado en [3], especialmente para intervalos diastólicos (DIs) altos.

4. Discusión

De acuerdo con los resultados presentados en este estudio, el método propuesto, basado en UKF, es capaz de identificar los valores de los (relativamente numerosos) parámetros del modelo BCF para reproducir formas de onda de AP específicas. Tomando como entrada la traza de AP generada con el modelo TNNP, nuestro método supera notablemente un enfoque previamente propuesto basado en la optimización no lineal con restricciones [3] tanto en la reproducción de la onda de AP en estacionario como de la curva de restitución APD. Adicionalmente, nuestro método es capaz de replicar de manera fiable las formas de los APs generados con otro modelo de célula ventricular humana, el modelo OVVR, así como los APs ventriculares humanos registrados experimentalmente. En estudios futuros, el método propuesto puede utilizarse para ajustar los datos de una población de células, manteniendo representaciones exactas de las características de las células individuales. Tales representaciones pueden ser de gran utilidad para realizar simulaciones realistas de tejidos y de corazón completo para las investigaciones de arritmia, a un coste computacional asumible.

En este trabajo se estimaron 22 de los 27 parámetros del modelo BCF. Los parámetros umbrales u_u , θ_v , θ_w , θ_v^- y θ_0 no se estimaron debido a la falta de suavidad en el espacio de soluciones. En estudios futuros se puede tratar de estimar estos parámetros, por ejemplo usando un método que itera entre métodos MCMC o los algoritmos genéticos (que no requieren ningún nivel de suavidad en las soluciones) y UKF, en lugar de usar el enfoque de *state augmentation* que se considera en este estudio [12]. Esta aproximación, sin embargo, incrementaría la complejidad del método de manera significativa.

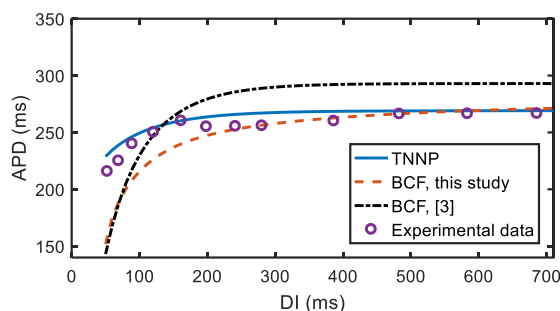


Figura 2 Curvas de restitución S1-S2 de APD para células ventriculares humanas calculadas con el modelo TNNP (azul sólido) y con el modelo BCF fenomenológico utilizando los valores de parámetro estimados en [3] (negro punteado) y en este estudio (rojo discontinuo). También se incluyen las mediciones experimentales de [11].

La introducción de estos parámetros de umbral adicionales podría dar lugar a una adaptación más precisa de la parte izquierda de la curva de restitución S1-S2 correspondiente a DIs muy pequeños. En estudios futuros se debería investigar más a fondo cómo podría ampliarse la metodología propuesta en este estudio para mejorar dicha adecuación.

5. Conclusiones

Se ha propuesto una metodología novedosa basada en filtros Sigma-Point para identificar los valores de los parámetros de modelos fenomenológicos de células cardíacas, permitiendo replicar morfologías completas de forma de onda de AP. La metodología propuesta se ha probado con éxito utilizando AP ventriculares humanos generados con modelos biofísicamente detallados (modelos TNNP y OVVR) y datos de células aisladas registrados experimentalmente.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado parcialmente por los proyectos TIN2013-41998-R y DPI2016-75458-R del Ministerio de Economía y Competitividad (MINECO), España, MULTITOOLS2HEART del CIBER-BBN a través del Instituto de Salud Carlos III, España, El Fondo Social Europeo (EU) y el Gobierno de Aragón a través del grupo consolidado BSICoS (T96) y por el European Research Council (ERC) a través del proyecto ERC-2014-StG 638284. El trabajo de D. A. Sampedro Puente está financiado además por el Gobierno de Aragón y fondos de la EU a través de un contrato predoctoral. Los cálculos numéricos se llevaron a cabo usando la ICTS NANBIOSIS, más específicamente unidad de cómputo de altas prestaciones del CIBER-BBN en la Universidad de Zaragoza

Referencias

- [1] K. H. ten Tusscher, D. Noble, P. J. Noble, and A. V. Panfilov, "A model for human ventricular tissue," *Am J Physiol Hear. Circ Physiol*, vol. 286, no. 4, pp. H1573-89, 2004.
- [2] T. O'Hara, L. Virág, A. Varró, and Y. Rudy, "Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: Model formulation and experimental validation," *PLoS Comput. Biol.*, vol. 7, no. 5, 2011.
- [3] A. Bueno-Orovio, E. M. Cherry, and F. H. Fenton, "Minimal model for human ventricular action potentials in tissue," *J. Theor. Biol.*, vol. 253, no. 3, pp. 544-560, 2008.
- [4] J. Walmsley, G. Mirams, M. Bahoshy, C. Bollensdorff, B. Rodriguez, and K. Burrage, "Phenomenological modeling of cell-to-cell and beat-to-beat variability in isolated guinea pig ventricular myocytes," *2010 Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc. EMBC'10*, pp. 1457-1460, 2010.
- [5] R. H. Johnstone *et al.*, "Uncertainty and variability in models of the cardiac action potential: Can we build trustworthy models?," *J. Mol. Cell. Cardiol.*, vol. 96, pp. 49-62, 2016.
- [6] R. H. Johnstone, R. Bardenet, D. J. Gavaghan, L. Polonchuk, M. R. Davies, and G. R. Mirams, "Hierarchical Bayesian modelling of variability and uncertainty in synthetic action potential traces," *Comput. Cardiol. (2010)*, vol. 43, pp. 1089-1092, 2017.
- [7] Z. Syed, E. Vigmond, S. Nattel, and L. J. Leon, "Atrial cell action potential parameter fitting using genetic algorithms," *Med. Biol. Eng. Comput.*, vol. 43, no. 5, pp. 561-571, 2005.
- [8] E. Pueyo *et al.*, "A multiscale investigation of repolarization variability and its role in cardiac arrhythmogenesis," *Biophys. J.*, vol. 101, no. 12, pp. 2892-2902, 2011.
- [9] E. A. Wan and R. Van Der Merwe, "The unscented Kalman filter for nonlinear estimation," *Proc. IEEE 2000 Adapt. Syst. Signal Process. Commun. Control Symp. (Cat. No.00EX373)*, pp. 153-158, 2002.
- [10] S. Särkkä, *Bayesian Filtering and Smoothing*. Cambridge University Press, 2013.
- [11] J. M. Morgan, D. Cunningham, and E. Rowland, "Dispersion of monophasic action potential duration: Demonstrable in humans after premature ventricular extrastimulation but not in steady state," *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol. 19, no. 6, pp. 1244-1253, 1992.
- [12] J. Kokkala, A. Solin, and S. Särkkä, "Expectation Maximization Based Parameter Estimation by Sigma-Point and Particle Smoothing," *Inf. Fusion (FUSION)*, 2014, no. 1, 2014.

Estudio mediante simulación de la regulación del calcio intracelular en cardiomiocitos caninos

E. Renú Carretero, J.M. Ferrero de Loma-Osorio

Ci2B, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, estefaniarenu@gmail.com, cferrero@ci2b.upv.es

Resumen

La regulación del calcio intracelular (Ca_i) en los cardiomiocitos es crucial debido a su relación con la contractilidad celular y la arritmogénesis. Las intervenciones farmacológicas y/o las mutaciones que afecten al nivel de expresión de canales iónicos pueden alterar las corrientes iónicas y, en consecuencia, el manejo del Ca_i . Debido a la dificultad para realizar un análisis sistemático del efecto de las variaciones de las corrientes iónicas utilizando únicamente medios experimentales, hemos llevado a cabo simulaciones computacionales con el fin de caracterizar los efectos de las alteraciones en los canales iónicos en determinados parámetros del Ca_i en cardiomiocitos de perro. Empleando el modelo de Decker-Rudy, se han simulado tanto potenciaciones como bloqueos de los canales iónicos, bombas e intercambiadores del sarcolema y del retículo sarcoplásmico utilizando valores desde el 0% al 200% respecto a sus valores de control. Posteriormente, se realizó un análisis de sensibilidad de los efectos de estas variaciones en una serie de parámetros del Ca_i a distintas frecuencias de estimulación. Nuestros resultados muestran que tanto la bomba SERCA como la bomba Na^+K^+ son claves controlando el calcio diastólico (CaD), calcio sistólico (CaS), la duración transitoria de calcio (CaTD90) y la máxima velocidad de ascenso (CaDotMax). Otros factores relevantes son la corriente a través de los canales de calcio tipo L y el intercambiador Na^+K^+ presente en el sarcolema. A altas frecuencias de estimulación, la importancia de I_{CaL} es más significativa.

1. Introducción

La regulación del calcio intracelular es un proceso clave en la electrofisiología de los cardiomiocitos [1,2]. Por un lado, determina la contractilidad celular [1], pues el calcio intracelular es el principal regulador del acoplamiento excitación-contracción miocárdico. Por otro lado, está íntimamente relacionada con la arritmogénesis, ya que la sobrecarga de calcio puede desencadenar una despolarización celular anormal [2,3]. Los cambios dinámicos en la concentración de calcio intracelular ($[Ca^{+2}]_i$) durante el potencial de acción son complejos. Tras la despolarización celular al inicio de un potencial de acción (PA), el calcio entra en la célula a través de los canales de calcio tipo L. Esto desencadena una liberación masiva de calcio desde el retículo sarcoplásmico (RS) al citosol a través de los receptores de rianodina, un proceso que puede elevar $[Ca^{+2}]_i$ alrededor de un orden de magnitud comparado con su valor basal (nivel diastólico de calcio). Tras el máximo de $[Ca^{+2}]_i$ (alcanzando su nivel sistólico), disminuye lentamente debido a (a) salida hacia el medio extracelular a través del intercambiador sodio-calcio (NCX) localizado en el sarcolema, y (b) entrada al RS a través de la bomba SERCA [4].

En las últimas dos décadas, el modelado matemático y las simulaciones computacionales han sido herramientas muy potentes utilizadas para lograr una mejor comprensión de los mecanismos intrínsecos relacionados con la electrofisiología celular de los cardiomiocitos (ver [5] para ampliar información). Estos estudios computacionales se basan en modelos matemáticos detallados y exhaustivos de potenciales de acción para distintas especies animales [6-8], incluyendo la humana [9]. Utilizando estos modelos, distintos estudios han conseguido caracterizar la influencia de las diferentes corrientes iónicas del sarcolema y del RS en el potencial de acción y biomarcadores preclínicos de Ca^{+2} intracelular [10, 11], pero ninguno de ellos se ha llevado a cabo en perro, un animal que ha sido ampliamente utilizado en el pasado en estudios sobre el efecto de fármacos y mutaciones [12, 13].

En este estudio, hemos hecho uso de un modelo existente muy conocido de potencial de acción y corrientes iónicas de un miocito ventricular de perro [7] para realizar posteriormente un análisis de sensibilidad con el fin de dilucidar los mecanismos iónicos que afectan a la regulación del Ca^{+2}_i .

2. Material y Métodos

El potencial de acción, corrientes iónicas subyacentes y los cambios dinámicos en las concentraciones iónicas de un miocito ventricular canino fueron simulados empleando una versión modificada del modelo de Decker-Rudy [7, 13], el cual incluye una formulación detallada de la dinámica del calcio. Se realizó un análisis de sensibilidad aplicando variaciones de un paso de tiempo en las corrientes iónicas presentes en la membrana del RS y del sarcolema. Específicamente, cada corriente se multiplicó por 0 (bloqueo completo), 0.3, 0.7, 1 (sin cambios) y 2 con tal de estudiar su impacto en biomarcadores relacionados con el calcio. Estos cambios podrían representar el efecto de fármacos o mutaciones, o simplemente variabilidad fisiológica interindividual [14]. Las simulaciones se llevaron a cabo a tres frecuencias de estimulación diferentes (1 Hz, 2 Hz y 3 Hz) y corrieron hasta alcanzar un estado estable. Los biomarcadores de calcio que se midieron incluían concentraciones de Ca^{+2} intracelular sistólica (CaS) y diastólica (CaD), duración transitoria de calcio a un 30% de recuperación (CaTD30) y a un 90% de recuperación (CaTD90), y la máxima velocidad de ascenso (CaDotMax).

La sensibilidad entre la variación de corriente más severa y la condición de “sin cambios” fue calculada tal y como se explica en [10]. Finalmente, las sensibilidades fueron normalizadas respecto a la máxima sensibilidad absoluta para cada biomarcador [10].

3. Resultados y Discusión

Las Figuras 1 y 2 muestran ejemplos representativos de los resultados de las simulaciones para dos corrientes iónicas que mostraron una mayor influencia en los biomarcadores de calcio: I_{NaK} (bomba Na^+-K^+ , Fig. 1) e I_{up} (bomba SERCA, Fig. 2). Los paneles superiores de estas figuras muestran registros de potencial de acción, mientras que los paneles inferiores representan transitorios de calcio intracelular. Las tres curvas en cada panel representan una simulación control (líneas sólidas), una simulación en la cual la corriente iónica correspondiente había sido parcialmente bloqueada ($\times 0.7$, líneas discontinuas) y una tercera en la cual la corriente fue potenciada ($\times 2$, líneas punteadas).

Los resultados observados en las figuras indican que, por lo general, las variaciones en las corrientes iónicas tienen un mayor impacto en los transitorios de calcio intracelular que en el potencial de acción en sí mismo. Por ejemplo, bloquear la bomba Na^+-K^+ un 30% reduce la duración del PA (APD) ligeramente pero aumenta la concentración máxima de calcio sistólico (CaS) un 219%. De manera similar, si la corriente de la bomba es duplicada, el APD aumenta levemente, mientras que el CaS disminuye un 71% respecto a su valor control. Un efecto similar se observa cuando la corriente de la bomba SERCA varía (Figura 2).

Las variaciones en el resto de corrientes iónicas afectan a los biomarcadores de calcio en una menor proporción y con diferentes tendencias. El caso de I_{Kr} (Fig. 4) tenía un particular interés: las variaciones en esta corriente, la cual es un objetivo farmacológico muy común, cambiaron el APD considerablemente pero, por el contrario, apenas tuvieron efecto en los biomarcadores de calcio.

Los resultados obtenidos en el análisis de sensibilidad fueron luego compilados y representados en la Figura 3 para dos frecuencias de estimulación distintas (1 Hz, correspondiendo a una longitud de ciclo básica (BCL) de 1000 ms, y 3 Hz, correspondiendo a un BCL de 333 ms). Las barras verticales representan los valores de los biomarcadores, normalizados respecto a sus valores de control (100%), como una función del factor multiplicativo de la corriente iónica. Únicamente se muestran los resultados de la corriente SERCA (I_{up}), pero se obtuvieron gráficas similares para cada corriente iónica. La figura destaca el efecto de la frecuencia de estimulación en la influencia de la bomba SERCA en la dinámica del calcio intracelular. Por ejemplo, un bloqueo completo de I_{up} tiene un efecto más pronunciado en el CaD a 3 Hz (aumento del 237%) que a 1 Hz (165%), y por el contrario, su influencia sobre el CaS es de un 72% y 100%, respectivamente.

Finalmente, los resultados mencionados anteriormente fueron normalizados y expresados como sensibilidades relativas, tal y como se explica en [10].

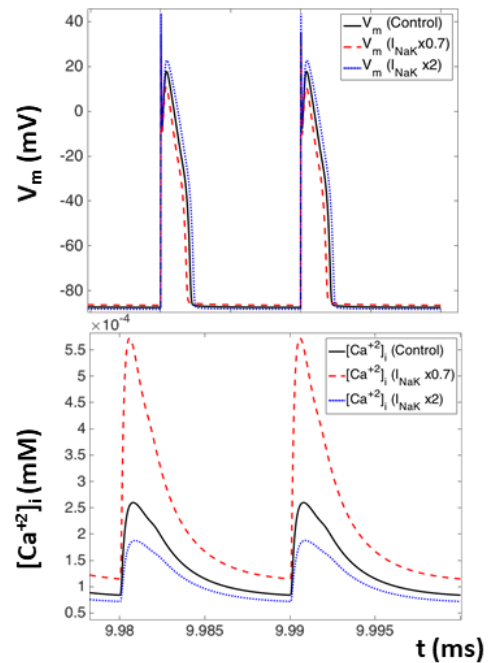


Figura 1. Potenciales de acción (panel superior) y transitorios de calcio intracelular (panel inferior) de la simulación control (línea continua negra), I_{NaK} bloqueada un 30% (línea discontinua roja) y potenciación de un 100% de I_{NaK} (línea de puntos azul)

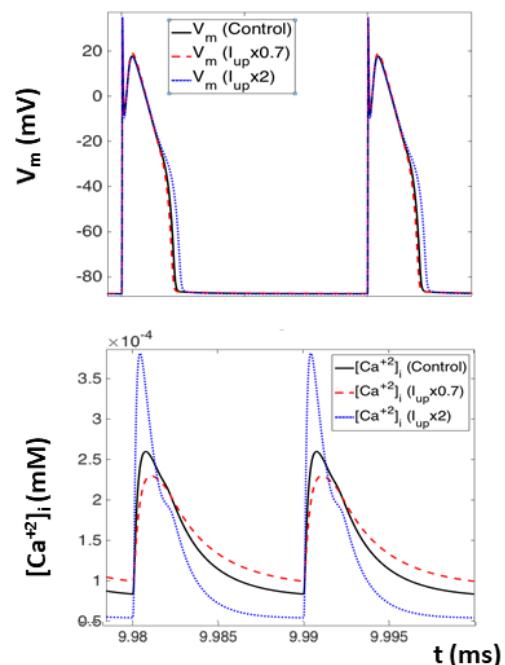


Figura 2. Potenciales de acción (panel superior) y transitorios de calcio intracelular (panel inferior) de la simulación control (línea continua negra), bloqueo del 30% de I_{SERCA} (línea discontinua roja) y potenciación del 100% de I_{SERCA} (línea de puntos azul)

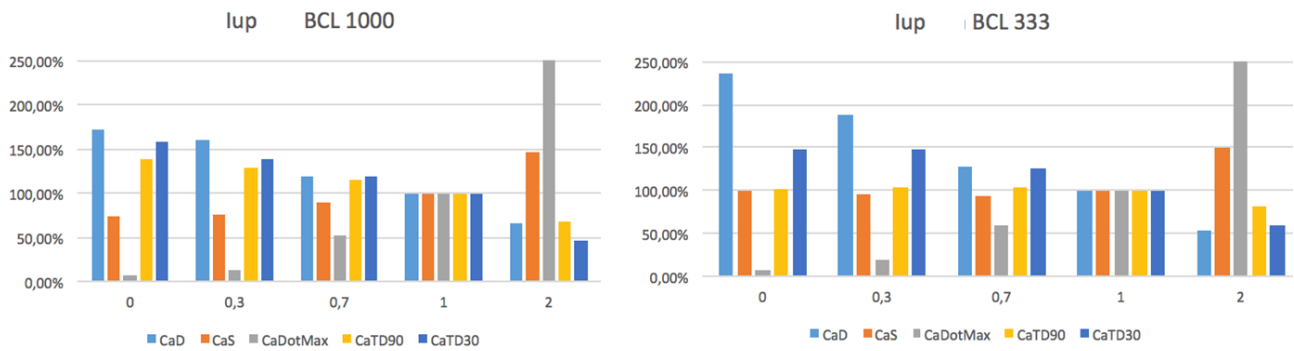


Figura 3. Resultados compilados del análisis de sensibilidad para el bloqueo (x_0 , $x_{0.3}$), control (x_1) y potenciación (x_2) de SERCA (I_{up}) a dos frecuencias de estimulación. Las barras muestran el valor relativo para cada biomarcador de calcio.

BCL 1000													
Rc,p	IKr	IKs	IK1	INa	INaL	INaK	INaCa_cai	INaCa_ss	ICaL	IpCa	Irel	Iup	Ito1
CaD	0,028	0,002	0,031	0,038	0,024	0,953	0,318	0,304	0,349	0,068	0,054	1,000	0,013
CaS	0,025	0,002	0,031	0,023	0,017	1,000	0,178	0,220	0,422	0,046	0,017	0,393	0,011
CaDotMax	0,020	0,002	0,026	0,017	0,014	1,000	0,160	0,187	0,370	0,038	0,035	0,827	0,019
CaTD90	0,189	0,038	0,071	0,009	0,123	0,433	0,033	0,056	0,320	0,012	0,069	1,000	0,007
CaTD30	0,378	0,030	0,111	0,043	0,194	0,575	0,074	0,087	0,486	0,003	0,110	1,000	0,065

Tabla 1. Sensibilidades relativas de los biomarcadores de calcio respecto a cambios en las corrientes iónicas a una frecuencia de estimulación de 1 Hz.

BCL 500													
Rc,p	IKr	IKs	IK1	INa	INaL	INaK	INaCa_cai	INaCa_ss	ICaL	IpCa	Irel	Iup	Ito1
CaD	0,009	0,001	0,034	0,061	0,037	0,880	0,220	0,219	0,437	0,056	0,037	1,000	0,003
CaS	0,017	0,001	0,030	0,032	0,018	1,000	0,084	0,121	0,541	0,030	0,010	0,148	0,004
CaDotMax	0,014	0,001	0,025	0,025	0,015	1,000	0,073	0,103	0,559	0,025	0,016	0,373	0,008
CaTD90	0,101	0,002	0,089	0,084	0,123	0,869	0,024	0,077	0,728	0,020	0,050	1,000	0,048
CaTD30	0,120	0,008	0,061	0,053	0,038	0,900	0,190	0,238	0,786	0,050	0,111	1,000	0,042

Tabla 2. Sensibilidades relativas de los biomarcadores de calcio respecto a cambios en las corrientes iónicas a una frecuencia de estimulación de 2 Hz.

BCL 333													
Rc,p	IKr	IKs	IK1	INa	INaL	INaK	INaCa_cai	INaCa_ss	ICaL	IpCa	Irel	Iup	Ito1
CaD	0,014	0,001	0,043	0,071	0,029	1,000	0,131	0,157	0,568	0,047	0,020	0,663	0,018
CaS	0,038	0,002	0,059	0,065	0,021	1,000	0,082	0,144	0,792	0,040	0,011	0,194	0,011
CaDotMax	0,010	0,001	0,015	0,015	0,004	1,000	0,020	0,034	0,412	0,010	0,005	0,114	0,003
CaTD90	0,250	0,040	0,191	0,072	0,057	0,919	0,070	0,143	0,933	0,012	0,116	1,000	0,033
CaTD30	0,010	0,001	0,022	0,070	0,048	1,000	0,205	0,308	0,749	0,063	0,041	0,879	0,0003

Tabla 3. Sensibilidades relativas de los biomarcadores de calcio respecto a cambios en las corrientes iónicas a una frecuencia de estimulación de 3 Hz.

Para cada biomarcador, la corriente cuyas variaciones tengan un mayor efecto sobre el mismo, tendrán un valor de referencia de 1.0, por lo que el efecto de las variaciones del resto de corrientes recibirá un valor entre 0 y 1. Los resultados están recogidos en la Tabla 1 (para 1 Hz, BCL = 1000 ms), Tabla 2 (2 Hz, BCL = 500 ms) y Tabla 3 (3 Hz, BCL = 333 ms). Los números en negrita indican una relación directa (esto es, el biomarcador aumenta con el factor multiplicativo), mientras que los números en cursiva indican una relación inversa. Los

tonos más oscuros indican la sensibilidad más fuerte de cada fila (valor igual a 1), mientras que los tonos más suaves corresponden a una falta de dependencia entre el biomarcador y el factor multiplicativo (valor igual a 0).

Los resultados que se muestran en las tablas indican que la bomba Na^+K^+ (I_{NaK}), la corriente a través de los canales de calcio tipo L (I_{CaL}) y la bomba SERCA (I_{up}) son las tres corrientes con mayor impacto sobre los biomarcadores de calcio. Sorprendentemente, el intercambiador Na^+/Ca^{+2} sólo presenta una leve influencia

en la dinámica del calcio (lo cual concuerda con resultados experimentales recientes [15]), así como ocurre con la corriente de liberación de RyR en el RS (I_{rel}). El resto de las corrientes del sarcolema juegan un papel muy poco significativo.

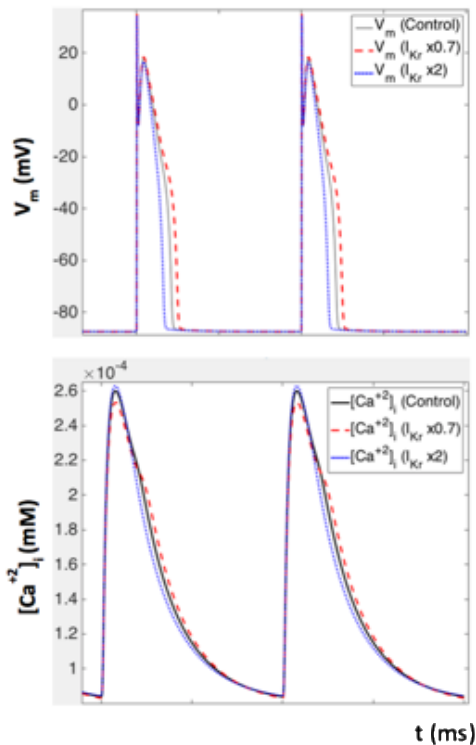


Figura 4: Potenciales de acción (panel superior) y transitorios de calcio intracelular (panel inferior) de la simulación control (línea continua negra), bloqueo del 30% de I_{Kr} (línea discontinua roja) y potenciación del 100% de I_{Kr} (línea de puntos azul)

4. Conclusión

Según los resultados de nuestras simulaciones, las corrientes iónicas que presentan una mayor influencia en los transitorios de calcio intracelular durante un potencial de acción cardíaco ventricular canino son la bomba Na^+/K^+ , la corriente a través de los canales de calcio tipo L y la bomba SERCA, jugando el resto de corrientes del sarcolema y del RS un papel menor.

Habiendo obtenido estos resultados, se plantea la posibilidad de buscar aquellos fármacos cuyo efecto sea el simulado mediante los distintos factores de bloqueo empleados, así como la búsqueda de aquellas mutaciones que podrían causar una sobreexpresión o inhibición de determinados canales iónicos con una mayor afectación respecto al calcio intracelular.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido apoyado parcialmente por la Dirección General de Política Científica de la Generalitat Valenciana (PROMETEO 2016/088), y por el “Plan Estatal de Investigación Científica y Tecnológica y de

Innovación 2013-2016” del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad de España (DPI2016-75799-R) y AEI/FEDER, UE.

Referencias

- [1] Eisner DA, Caldwell JL, Kistamás K, Trafford AW. Calcium and Excitation-Contraction Coupling in the Heart. *Circ Res.* 2017 Jul 7;121(2):181-195.
- [2] Ter Keurs HEDJ, Boyden PA. Calcium and Arrhythmogenesis. *Physiol Rev.* 2007 Apr; 87(2): 457–506.
- [3] Piacentino V, Weber CR, Chen X, Weisser-Thomas J, Margulies KB, Bers DM, et al. Cellular basis of abnormal calcium transients of failing human ventricular myocytes. *Circ Res.* 2003;92(6):651–8.
- [4] Bers DM, Shannon TR. Calcium Movements Inside the Sarcoplasmic Reticulum of Cardiac Myocytes. *J Mol Cell Cardiol.* 2013 May; 58: 59–66.
- [5] Trénor B, Romero L, Cardona K, Gomis J, Saiz J, Ferrero JM. Multiscale Modeling of Myocardial Electrical Activity: From Cell to Organ. *Applied Biomedical Engineering*, Dr. Gaetano Gargiulo (Ed.), InTech, DOI: 10.5772/22907.
- [6] Luo CH, Rudy Y. A model of the ventricular cardiac action potential. Depolarization, repolarization, and their interaction. *Circ Res.* 1991 Jun;68(6):1501
- [7] Decker KF, Heijman J, Silva JR, Hund TJ, Rudy Y. Properties and ionic mechanisms of action potential adaptation, restitution, and accommodation in canine epicardium. 1D simulation study. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2009 Apr;296(4):H1017-26.
- [8] Shannon TR, Wang F, Puglisi J, Weber C, Bers DM. A mathematical treatment of integrated Ca dynamics within the ventricular myocyte. *Biophys J.* 2004 Nov;87(5):3351–71.
- [9] O’Hara T, Virág L, Varró A, Rudy Y. Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: Model formulation and experimental validation. *PLoS Comput Biol.* 2011;7(5).
- [10] Romero L, Carbonell B, Trenor B, Rodríguez B, Saiz J, Ferrero JM. Systematic characterization of the ionic basis of rabbit cellular electrophysiology using two ventricular models. *Prog Biophys Mol Biol.* 2011 Oct;107(1):60-73.
- [11] Gomez JF, Cardona K, Romero L, Ferrero JM, Trenor B. Electrophysiological and structural remodeling in heart failure modulate arrhythmogenesis. 1D simulation study. *PLoS One.* 2014;9(9).
- [12] Antzelevitch C, Belardinelli L et al. Electrophysiologic Effects of Ranolazine. A Novel Anti-Anginal Agent with Antiarrhythmic Properties. *Circulation.* 2004 Aug 24; 110(8): 904–910.
- [13] L Virág, N Jost, R Papp, I Koncz, A Kristóf, Z Kohajda, G Harmati, B Carbonell-Pascual, JM Ferrero Jr, JG Papp, PP Nánási, and A Varró. Analysis of the contribution of Ito to repolarization in canine ventricular myocardium. *Br J Pharmacol.* 2011 Sep; 164(1): 93–105.
- [14] Muszkiewicz A, Britton OJ, Gemmel P, Passini E, Sánchez C, Zhou X, Carusi A, Quinn TA, Burrage K, Bueno-Orovio A, Rodriguez B. Variability in cardiac electrophysiology: Using experimentally-calibrated populations of models to move beyond the single virtual physiological human paradigm. *Prog Biophys Mol Biol.* 2016 Jan;120(1-3):115-27.
- [15] Kohajda Z, et al. The Effect of a Novel Highly Selective Inhibitor of the Sodium/Calcium Exchanger (NCX) on Cardiac Arrhythmias in In Vitro and In Vivo Experiments. *PLoS One.* 2016; 11(11): e0166041.

Univariate vs Multivariate Sensitivity Analysis of Calcium Dynamics in Simulated Human Heart Failure

M.T. Mora¹, J.M. Ferrero¹, B. Trenor¹

¹ Centro de Investigación e Innovación en Bioingeniería, Universitat Politècnica de València, Valencia, España, mmora@ci2b.upv.es

Abstract

Calcium (Ca^{2+}) homeostasis is essential to assure heart contraction. Heart failure (HF) changes lead to abnormal cardiac function and restoring the altered Ca^{2+} dynamics becomes important to maintain cardiac pump function. The electrophysiological exploration of ionic transport mechanisms facilitates the understanding of how they could modulate Ca^{2+} handling. Multiple studies focusing action potential biomarkers have provided a better understanding of cardiac electrophysiology but these studies do not usually consider changes in Ca^{2+} dynamics. Sensitivity analyses are known as potential methods to systematically study the electrical activity in myocytes and our goal is to compare the results obtained by two slightly different sensitivity analyses performed on a human endocardial action potential model under normal and failing conditions. Univariate and multivariate studies are commonly used in the literature to determine the main modulators of electrophysiological characteristics, but results obtained by both methodologies have not been compared in detail. The measurement and analysis of electrophysiological Ca^{2+} indicators reveals, using both methodologies, the importance of SERCA, followed by NCX and I_{CaL} in modulating these characteristics, and highlights some changes in HF.

1. Introduction

The increasing number of cardiac pathologies is leading to the search of new therapies. The use of pharmacological agents has been historically very important because of their capacity to modify the electrical activity of the heart, preventing or reducing the progress of a pathology. In HF, myocytes undergo an electrophysiological (EP) remodeling [1], among other changes, which alters ionic concentrations and action potentials (APs) [2,3]. The process of excitation-contraction coupling is thus affected, leading to cardiac contraction problems and malignant arrhythmias. The regulation of cardiac contractility by cytosolic Ca^{2+} concentration ($[Ca^{2+}]_i$) requires a Ca^{2+} flux balance control in HF [4]. Intracellular Ca^{2+} transients (CaTs) experimentally measured in failing myocytes show a depressed amplitude, due to the decreased and increased systolic and diastolic $[Ca^{2+}]_i$ respectively, and a prolonged duration (CaTD) [3,5].

The direct relationship between Ca^{2+} cycling and the most relevant sarcolemmal and/or sarcoplasmic reticulum currents has been experimentally established [6,7], but additional channels and transport mechanisms are involved in determining Ca^{2+} dynamics. EP studies, as well as computer simulations, throw light on how all

these mechanisms work. Sensitivity analysis is a powerful tool that allows a rapid assessment of parameter variation, either independently (one at a time) or at the same time (multivariate analysis) and helps in the identification of the most important EP modulators [8,9]. Drug effects can also be evaluated using sensitivity analysis, by simulating variations in different ionic parameters regulating the dynamics of ion channels.

The present work was designed to analyze drug-induced modulation of Ca^{2+} dynamics under different conditions (normal and HF) to complement the experimental results or suggest new experiments that clarify the discrepancies. Two methodologies of *in silico* sensitivity analyses were performed to know how parameter variations could regulate Ca^{2+} handling. Results of both analysis show similarities and differences in determining Ca^{2+} modulators. Differences between both conditions reveal the effect of HF remodeling on drug effectiveness and highlight the most suitable parameters to restore Ca^{2+} levels and contractility in each situation.

2. Methods

The O'Hara et al. ventricular AP model (ORd) [10] was used as the baseline model to simulate the EP activity of an endocardial cell at a basic cycle length of 1000 ms. Small modifications to improve the Na^+ current formulation led to a new version of the model (ORdmm). These changes included an enhancement of the fast current (I_{Na}) changing the steady-state dynamics of the gates m_{ss} , h_{ss} , and j_{ss} [11], and an increase of the late component (I_{NaL}) to match experimental observations [12]. To simulate HF, we introduced the EP remodeling reported in the study of Gomez et al. [1] on ORdmm. Sensitivity analyses were performed by varying the following ionic parameters: I_{Na} , I_{NaL} , the transient outward K^+ current (I_{to}), the L-type Ca^{2+} current (I_{CaL}), the rapid delayed rectifier K^+ current (I_{Kr}), the slow delayed rectifier K^+ current (I_{Ks}), the inward rectifier K^+ current (I_{K1}), the Na^+/Ca^{2+} exchange current (I_{NCX}), the Na^+/K^+ pump current (I_{NaK}), the Ca^{2+} uptake via SERCA pump (J_{SERCA}), the SR Ca^{2+} release flux via RyR (J_{rel}), the SR Ca^{2+} leak (J_{leak}) and the Na^+ background current (I_{Nab}). Parameter variations attempted to reproduce potential drug effects and for simplicity, they only included changes in ionic conductances. The studied EP characteristics, measured from steady-state intracellular Ca^{2+} transients (CaTs), were the Ca^{2+} peak achieved in

systole and the CaT duration at 80% recovery (CaTD₈₀), which are altered in HF.

A first simple sensitivity analysis consisted of applying a one-at-a-time variation of -60% and +60% to the baseline value of the selected parameters in the two basic models (ORDmm and ORDmm with HF). This variation is within the variability range considered in other sensitivity studies [8,11]. In this univariate study, sensitivities ($S_{c,p}$) were calculated as the percentage of change of the baseline level of Ca²⁺ indicators when existing a $\pm 60\%$ individual parameter variability [8].

$$D_{c,p,x} = \frac{c_{p,x} - c_{basic}}{c_{basic}} \cdot 100 \quad (1)$$

$$S_{c,p} = \frac{D_{c,p,2} - D_{c,p,1}}{\Delta a} \quad (2)$$

$D_{c,p,x}$ is the percentage of change with “c” being the magnitude of the characteristic “c” when parameter “p” undergoes a change ($x=1$: -60% and $x=2$: +60% HF), with respect to the basic model (normal or HF ORDmm), and c_{basic} the value of the same property in the basic model; Δa is the total interval of change of parameter p (equal to 1.2 in this case).

Multivariable regression was the second methodology employed for sensitivity calculation. It is based on a linear regression (eq. (3)) involving all the parameters (X) and attempting to predict each EP indicator (Y). Therefore, sensitivities are represented by regression coefficients (B_{PLS}). Two populations of models (with and without HF), with the selected parameters of the model

varying randomly between -60% and +60% its original value, were generated. Parameter values within this range were generated from a log-normal distribution of standard deviation equal to 0.3 (2σ corresponds to 95% of conductances varying between 40% and 160%). Regression coefficients were obtained by applying PLS (partial least squares) as shown in eq. (4), after several transformations, such as log-transformations and normalizations [9,13].

$$Y_{predicted} = X \times B_{PLS} \quad (3)$$

$$B_{PLS} = (X^T X)^{-1} \times X^T Y \quad (4)$$

Relative sensitivities were calculated to compare both sensitivity analyses and parameters highlighted as the most important contributors to each EP characteristic. Relative sensitivities were calculated as the ratio between each sensitivity and the maximum absolute value obtained for a particular indicator.

3. Results and Discussion

In Figure 1, relative sensitivities are represented to compare the univariate and multivariate results, revealing the impact of ORDmm parameters on Ca²⁺ biomarkers. In general, the $\pm 60\%$ modulation of the most important ion currents and transport mechanisms contribute similarly to EP characteristics under normal conditions and HF. However, slight differences highlight the existence of synergy between variables, i.e., the variability of the selected parameters contributes to the effect of a particular transport mechanism on Ca²⁺ indicators. For

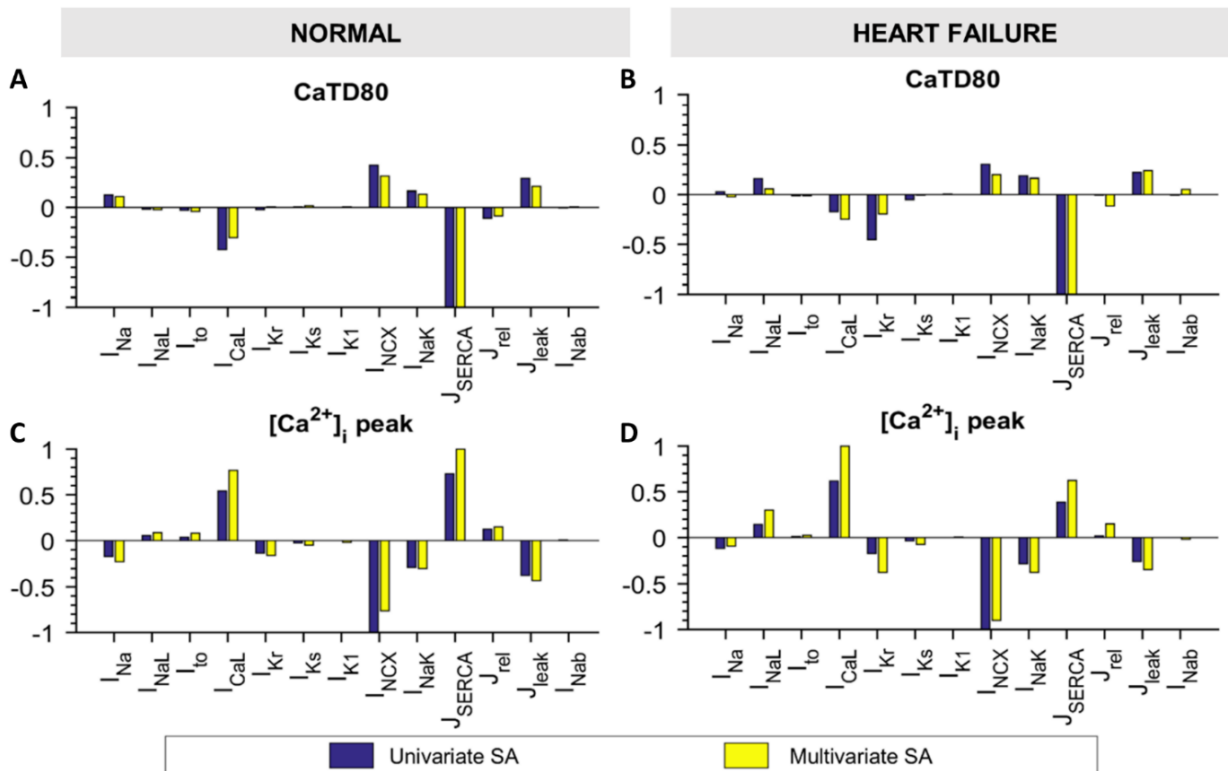


Figure 1. Univariate vs Multivariate relative sensitivities of CaTD80 and systolic [Ca²⁺]_i peak to changes in electrophysiological parameters under normal (left panels) and heart failure conditions (right panels).

example, in Figure 1A, I_{NCX} , I_{CaL} and J_{leak} show a smaller contribution to $CaTD_{80}$ in the multivariable regression than in the univariate analysis under normal conditions. In HF (Figure 1B), the impact of NCX is also smaller in multivariate vs univariate analysis, as well as I_{NaL} effect, but sensitivity to I_{CaL} becomes higher. Multivariate analysis takes into account ionic interactions for a wide HF remodeling variability or when multi-channel drugs are applied, whereas univariate analysis considers the sensitivity of one parameter for a specific and fixed state of the other ion channels. The major difference is observed in I_{Kr} contribution.

The analysis of Ca^{2+} peak modulators reveals differences that lead to a change of the main parameter regulating this biomarker. In Figure 1C, I_{NCX} is the strongest modulator, followed by J_{SERCA} and I_{CaL} , when sensitivities are obtained with the one-at-a-time methodology, whereas multivariate methodology indicates another order of priority: J_{SERCA} , I_{CaL} , and I_{NCX} . In HF (Figure 1D), the strongest modulators are I_{NCX} , I_{CaL} and J_{SERCA} , according to univariate results, whereas the multivariate analysis yields I_{CaL} , followed by I_{NCX} and J_{SERCA} as main modulators.

The main interest of these sensitivity analyses resides in the fact that they reveal how drug-induced changes in ionic channels and transporters modify Ca^{2+} biomarkers. Different effects under normal conditions and HF give an orientation to design experiments with pharmacological agents.

The univariate analysis reveals a high sensitivity of Ca^{2+} biomarkers to J_{SERCA} , being the strongest modulator of $CaTD_{80}$ and the second of Ca^{2+} peak. Absolute

sensitivities can be found in Table 1. In HF, these sensitivities are significantly reduced. SERCA ensures intracellular Ca^{2+} uptake inside the sarcoplasmic reticulum (SR), determining SR $[Ca^{2+}]_i$. Changes in SERCA activity, such as the downregulation experienced in HF, reduces SR Ca^{2+} content. Consequently, Ca^{2+} homeostasis is altered as the measured EP characteristics reflect [3,5]. Pharmacological development to increase SR Ca^{2+} uptake is thus important and can be compared to gene therapy methods [6,14], but targeting J_{SERCA} in HF is hindered by its remodeled activity.

I_{NCX} and I_{CaL} are secondary targets to reduce CaTD, blocking and enhancing them, respectively, although sensitivities to these currents are also reduced in HF. An unexpected finding is the indirect I_{Kr} contribution to $CaTD_{80}$ shortening, only observed in HF (Figure 1A and 1B). This means that an enhancement of I_{Kr} , in addition to decrease APD (parameter very sensitive to this current in the ORd model [10]), could help to decrease CaTD in HF.

Regarding Ca^{2+} peak, as stated above, I_{NCX} is the strongest parameter, followed by J_{SERCA} and I_{CaL} . I_{NCX} activity involves the extrusion of Ca^{2+} out of the cell, reducing intracellular levels. I_{NCX} presents a greater influence than J_{SERCA} in both conditions, becoming an important target in HF to improve CaT properties, although the smaller sensitivity existing under pathological conditions should be taken into account. There are no specific NCX inhibitors, but NCX overexpression showed beneficial results on Ca^{2+} homeostasis in other studies [15]. The relative positive role of I_{CaL} on systolic Ca^{2+} increases in HF because it is not a remodeled ionic mechanism, unlike SERCA or NCX (Figure 1D, blue bars). However, the

Parameter	UNIVARIATE				MULTIVARIATE			
	CaTD80		$[Ca^{2+}]_i$ peak		CaTD80		$[Ca^{2+}]_i$ peak	
	N	HF	N	HF	N	HF	N	HF
I_{Na}	12.03	0.12	-29.61	-7.82	0.10	-0.02	-0.15	-0.05
I_{NaL}	-1.76	4.21	10.38	10.47	-0.02	0.04	0.06	0.17
I_{to}	-2.70	-0.14	7.17	1.10	-0.04	-0.01	0.05	0.02
I_{CaL}	-41.20	-2.84	95.03	43.36	-0.28	-0.19	0.51	0.55
I_{Kr}	-2.05	-11.22	-23.72	-13.13	0.00	-0.14	-0.11	-0.21
I_{Ks}	0.65	-1.48	-4.20	-2.38	0.02	0.00	-0.03	-0.04
I_{K1}	-0.17	0.19	0.20	0.32	0.00	0.00	-0.01	0.00
I_{NCX}	41.17	6.22	-175.09	-68.74	0.28	0.15	-0.50	-0.50
I_{NaK}	16.39	4.47	-51.05	-19.48	0.12	0.13	-0.20	-0.21
J_{SERCA}	-97.59	-24.32	128.24	22.55	-0.91	-0.75	0.66	0.35
J_{rel}	-10.70	-0.09	22.22	1.11	-0.08	-0.09	0.10	0.08
J_{leak}	28.58	5.38	-65.65	-18.27	0.19	0.18	-0.29	-0.19
I_{Nab}	-0.66	-0.17	1.67	0.39	0.00	0.04	0.00	-0.01

Table 1. Univariate absolute sensitivities (%) and Multivariate regression coefficients of $CaTD_{80}$ and systolic $[Ca^{2+}]_i$ peak to changes in electrophysiological parameters under normal and heart failure conditions.

absolute sensitivity is lower in HF because the specific EP remodeling in other parameters affects the capacity of I_{CaL} to increase $[Ca^{2+}]_i$.

Likewise, some regression coefficients of the multivariate analysis decrease in HF in comparison to the impact of parameters under normal conditions. The main parameters regulating $CaTD_{80}$ do not vary with myocyte conditions, except I_{Kr} in the HF model (Figure 1B). Indeed, the multivariate analysis reveals that, although there is a relative increase in I_{Kr} effect, it is small in comparison to univariate results. Specific fixed parameters in HF contribute to the high effect found initially, while considering possible natural or drug-induced variability in the rest of parameters we see less influence. In this case, I_{Kr} could be modulated without great impact on $CaTD_{80}$ in HF, compared to univariate results, whereas in normal conditions there is no effect.

J_{SERCA} , I_{CaL} and I_{NCX} are the main modulators of systolic $[Ca^{2+}]_i$. SERCA has the strongest impact under normal conditions, whereas I_{CaL} becomes the most important modulator in HF. Since L-type Ca^{2+} channels are not affected by EP remodeling, this current maintains its contribution to $[Ca^{2+}]_i$, and the results also suggest an independency of I_{CaL} to the other parameters of the model. This means that an enhancement of I_{CaL} could be beneficial to increase Ca^{2+} peak in HF, regardless of the state of the other parameters. Unexpectedly, I_{NCX} impact does not change between both conditions despite the enhancement experienced in HF.

Due to the minor differences between the single and multivariable regression, the first analysis, which is simpler, is powerful enough to have a general idea of the contribution of ionic parameters.

4. Conclusions

Univariate and Multivariate results agree that an enhanced SERCA activity is beneficial for both the $CaTD$ and the systolic $[Ca^{2+}]_i$. But a further improvement of Ca^{2+} peak is achieved with NCX inhibition or I_{CaL} enhancement because in HF, they are better regulators than SERCA.

Acknowledgements

This work was partially supported by Dirección General de Política Científica de la Generalitat Valenciana (PROMETEO 2016/088), and by the “Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación 2013-2016” from the Ministerio de Economía, Industria y Competitividad of Spain (DPI2016-75799-R) and AEI/FEDER, UE.

References

- [1] Gomez JF, Cardona K, Romero L, Ferrero JM, Trenor B. Electrophysiological and structural remodeling in heart failure modulate arrhythmogenesis. 1D simulation study. *PLoS One*, vol 9, 2014, e106602.
- [2] Drouin E, Lande G, Charpentier F. Amiodarone reduces transmural heterogeneity of repolarization in the human heart. *J. Am. Coll. Cardiol.*, vol 32, 1998, pp 1063–7.
- [3] Piacentino V, Weber CR, Chen X, Weisser-Thomas J, Margulies KB, Bers DM, et al. Cellular basis of abnormal calcium transients of failing human ventricular myocytes. *Circ. Res.*, vol 92, 2003, pp 651–8.
- [4] Eisner DA, Caldwell JL, Kistamás K, Trafford AW. Calcium and Excitation-Contraction Coupling in the Heart. *Circ. Res.*, vol 121, 2017, pp 181–95.
- [5] Schmidt U, Hajjar RJ, Helm PA, Kim CS, Doye AA, Gwathmey JK. Contribution of Abnormal Sarcoplasmic Reticulum ATPase Activity to Systolic and Diastolic Dysfunction in Human Heart Failure. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, vol 30, 1998, pp 1929–37.
- [6] del Monte F, Harding SE, Schmidt U, Matsui T, Kang ZB, Dec GW, et al. Restoration of contractile function in isolated cardiomyocytes from failing human hearts by gene transfer of SERCA2a. *Circulation*, vol 100, 1999, pp 2308–11.
- [7] Roe AT, Frisk M, Louch WE. Targeting cardiomyocyte Ca^{2+} homeostasis in heart failure. *Curr. Pharm. Des.*, vol 21, 2015, pp 431–48.
- [8] Romero L, Pueyo E, Fink M, Rodríguez B. Impact of ionic current variability on human ventricular cellular electrophysiology. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.*, vol 297, 2009, pp H1436–45.
- [9] Sobie EA. Parameter sensitivity analysis in electrophysiological models using multivariable regression. *Biophys. J.*, vol 96, 2009, pp 1264–74.
- [10] O’Hara T, Virág L, Varró A, Rudy Y. Simulation of the undiseased human cardiac ventricular action potential: model formulation and experimental validation. *PLoS Comput. Biol.*, vol 7, 2011, e1002061.
- [11] Passini E, Mincholé A, Coppini R, Cerbai E, Rodriguez B, Severi S, et al. Mechanisms of pro-arrhythmic abnormalities in ventricular repolarisation and anti-arrhythmic therapies in human hypertrophic cardiomyopathy. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, vol 96, 2016, pp 72–81.
- [12] Maltsev VA, Undrovinas AI. A multi-modal composition of the late Na^{+} current in human ventricular cardiomyocytes. *Cardiovasc. Res.*, vol 69, 2006, pp 116–27.
- [13] Morotti S, Nieves-Cintrón M, Nystoriak MA, Navedo MF, Grandi E. Predominant contribution of L-type $Cav1.2$ channel stimulation to impaired intracellular calcium and cerebral artery vasoconstriction in diabetic hyperglycemia. *Channels*, vol 11, 2017, pp 340–6.
- [14] Teucher N, Prestle J, Seidler T, Currie S, Elliott EB, Reynolds DF, et al. Excessive sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase expression causes increased sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} uptake but decreases myocyte shortening. *Circulation*, vol 110, 2004, pp 3553–9.
- [15] Wang J, Chan TO, Zhang X-Q, Gao E, Song J, Koch WJ, et al. Induced overexpression of Na^{+}/Ca^{2+} exchanger transgene: altered myocyte contractility, $[Ca^{2+}]_i$ transients, SR Ca^{2+} contents, and action potential duration. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, vol 297, 2009, pp H590–601.

Modelo computacional del metabolismo y transporte del colesterol

M. Berbeira Santana¹, A. Talaminos Barroso², L. M. Roa Romero^{2,3}

¹ Grado en Biomedicina Básica y Experimental, Universidad de Sevilla

² Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Sevilla

³ Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN)

Resumen

En este trabajo se presenta un modelo computacional de tipo compartimental para estudiar nuevas dianas farmacológicas que nos ayuden a tratar la hipercolesterolemia. La estructura fisiológica del modelo se basa en los mecanismos del transporte y metabolismo del colesterol, como son las lipoproteínas y diversos órganos y enzimas presentes en nuestro organismo. El modelo ha sido validado considerando condiciones normales y comparándolo con otros estudios experimentales. Tras la validación, se ha realizado un análisis de sensibilidad en el que obtenemos información relevante sobre los parámetros con mayor sensibilidad en la modificación de la concentración plasmática de colesterol. También se simulan diferentes tipos de terapias, como las farmacológicas, poniéndose de manifiesto la ineficacia de los inhibidores de la proteína de transferencia del ester de colesterol (CETP).

1. Introducción

El metabolismo y transporte del colesterol es una de las rutas bioquímicas más intrigantes para la ciencia actual. La complejidad de sus rutas y su gran variedad enzimática resulta en que, su descripción exacta, sea actualmente muy complicada de desarrollar. Este transporte se realiza por el sistema circulatorio y se encuentra centrado en el órgano metabólico por excelencia, el hígado. En este sentido, la cantidad de colesterol que se regula y su velocidad de distribución por los tejidos se encuentran influidas por diferentes lipoproteínas, tales como las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL); así como también otras enzimas localizadas por todo el organismo [1, 2].

El desbalance de algunos de estos procesos puede concluir en un aumento de su concentración plasmática, lo cual ha demostrado ser causa de más de un tercio de las enfermedades arteriales coronarias y que termina ocasionando más de 2.6 millones de muertes anuales globalmente (según fuentes de la Organización Mundial de la Salud (OMS)) [3]. Esto se debe al aumento en la ingesta de lipoproteínas oxidadas (debido a una acumulación de colesterol en sangre por encima de 200 mg/dl) por los macrófagos localizados en la capa íntima de las arterias y una imposibilidad de retirarlas de su citoplasma; lo que conlleva una reacción inflamatoria y, finalmente, la creación de una placa de grasa denominada ateroma que al crecer, acaba taponando la luz de la arteria, impidiendo el flujo sanguíneo y causando complicaciones en el funcionamiento del aparato circulatorio [1-5].

El objetivo de este trabajo es el diseño y desarrollo de un modelo computacional que describa los mecanismos básicos del metabolismo corporal del colesterol con vistas a realizar un análisis de sensibilidad para detectar qué parámetros de esta red bioquímica son de interés a la hora de producir nuevos fármacos hipocolesterolemiantes o, incluso, mejorar las herramientas diagnósticas y terapéuticas actuales. En el apartado de Materiales y métodos se incluye la estructura fisiológica del modelo, las ecuaciones que rigen los comportamientos dinámicos y la descripción de los parámetros. Seguidamente, en la sección de Resultados y discusión se presenta la validación del modelo, así como un análisis de sensibilidad respecto de los parámetros que presentan mayor sensibilidad en el metabolismo del colesterol. Finalmente, en Conclusiones se resaltan los resultados obtenidos, así como las posibles líneas de trabajo futuras.

2. Materiales y métodos

Para poder analizar los parámetros implicados en la regulación de los niveles de colesterol en sangre, así como su dinámica temporal, se ha desarrollado un modelo matemático compartimental basado en los procesos fisiológicos que toman parte en el transporte del colesterol. La metodología utilizada para la construcción del modelo ha sido: descripción de los compartimentos y las relaciones entre los mismos, cuantificación, codificación, validación y finalmente, análisis de sensibilidad.

El modelo se basa en la existencia de seis compartimentos clave donde podemos encontrar colesterol en el organismo. Además, también existen una serie de interrelaciones entre los diferentes compartimentos debido a la fisiología del metabolismo del colesterol, así como del transporte de éste entre los diferentes órganos (Figura 1).

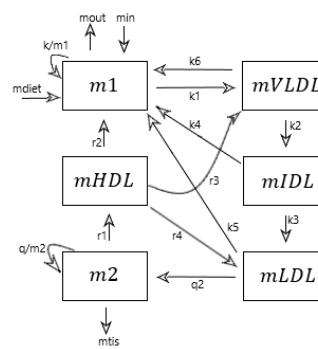


Figura 1. Relaciones entre los compartimentos.

Estos diferentes compartimentos serán las variables de estado del sistema, las cuales están descritas en la Tabla 1, y cuyas variaciones marcarán la dinámica de la concentración de colesterol sanguínea.

Variable de estado	Descripción
m1	Masa de colesterol hepática
m2	Masa de colesterol periférica
mVLDL	Masa de colesterol VLDL
mIDL	Masa de colesterol IDL
mLDL	Masa de colesterol LDL
mHDL	Masa de colesterol HDL

Tabla 1. Descripción de las variables de estado del modelo.

Las interconversiones, actividades enzimáticas o internalizaciones que se producen como parte de la dinámica de estas lipoproteínas durante el transporte serán descritas mediante una serie de parámetros que dependerán de la reacción o proceso en cuestión. Los más importantes están descritos mediante las ratios que presentan en la Tabla 2, mientras que los demás han sido obtenidos de diferentes estudios de la literatura [3, 6].

Parámetro	Descripción	Valor
k	Síntesis hepática	9775.576 mg ² /min
min	Sales biliares reabsorbidas	16.389 mg/min
mdiet	Consumo en la dieta	0.211 mg/min
r3	Actividad CETP HDL-VLDL	0.0002083 mg/min

Tabla 2. Descripción de los parámetros más significativos usados en el modelo y sus valores.

Finalmente, de la descripción del esquema base del modelo, podemos derivar un sistema de seis ecuaciones diferenciales ordinarias que describen la dinámica temporal del modelo y las ratios de cambio de masa de colesterol en cada compartimento. Esta variación de las variables de estado estará influenciada por la entrada o salida de colesterol que se presente en cada órgano y la ruta que sigue para hacerlo, según lo descrito en la Figura 1.

$$\frac{dm1}{dt} = \frac{k}{m1} + min - mout + mdiet - k1 \cdot m1 + r2 \cdot mHDL + k4 \cdot mIDL + k5 \cdot mLDL + k6 \cdot mVLDL \quad (1)$$

$$\frac{dmVLDL}{dt} = k1 \cdot m1 - k2 \cdot mVLDL + r3 \cdot mHDL - k6 \cdot mVLDL \quad (2)$$

$$\frac{dmIDL}{dt} = k2 \cdot mVLDL - k3 \cdot mIDL - k4 \cdot mIDL \quad (3)$$

$$\frac{dmLDL}{dt} = k3 \cdot mIDL - q2 \cdot mLDL - k5 \cdot mLDL + r4 \cdot mHDL \quad (4)$$

$$\frac{dm2}{dt} = \frac{q}{m2} - mtis + q2 \cdot mLDL - r1 \cdot m2 \quad (5)$$

$$\frac{dmHDL}{dt} = r1 \cdot m2 - r3 \cdot mHDL - r2 \cdot mHDL - r4 \cdot mHDL \quad (6)$$

Cabe destacar el caso de las ecuaciones 1 y 5 en la que observamos términos fraccionarios. Esto se da debido a que en ambos compartimentos (hepático y periférico) la síntesis de colesterol es inversamente proporcional a la masa de colesterol presente en ese momento determinado en el órgano. Por lo que, al dividir la ratio de síntesis de colesterol entre la masa de colesterol total, estamos representando el mecanismo de retroalimentación negativa que nos encontramos dentro de la ruta de síntesis del colesterol.

Las simulaciones y la resolución de las ecuaciones se han realizado en Matlab, un lenguaje de programación para modelado y simulación, mediante el método de Euler.

3. Resultados y discusión

A continuación, se presentan las condiciones iniciales de las variables de estado. Estas son distintas a los valores indicados en la literatura debido a que éstos presentan problemas de estabilidad a la hora de realizar las simulaciones en conjunto con la serie de parámetros anteriormente presentada [3, 6] y han debido de ser modificadas y recalculadas para que la dinámica sea óptima. Esto puede deberse a la gran dificultad teórica y experimental existente a la hora de realizar la parametrización del modelo.

Variable de estado	Condición inicial
m1	1991 mg
m2	222900 mg
mVLDL	733 mg
mIDL	725.8 mg
mLDL	3462 mg
mHDL	54.7 mg

Tabla 3. Valores recalculados de las variables de estado para la serie de parámetros obtenidos por McAuley et al.

3.1. Validación del modelo

Para establecer la validez del modelo se ha partido de unas condiciones fisiológicas normales, considerando como parámetros del modelo, los recogidos en la Tabla 1, y como condiciones iniciales de las variables de estado, los expuestos en la Tabla 2. En los resultados obtenidos de esta simulación (Figura 2) se observa que el comportamiento sigue sin ser totalmente estable, ya que la concentración de colesterol en sangre tiende a aumentar paulatinamente durante todo el tiempo de simulación (25 años). Esto puede ser debido a un reflejo de los mecanismos fisiológicos que se disparan con la edad y que contribuye a un aumento de la concentración, por lo que el modelo representa una dinámica que concuerda con estudios que se están realizando actualmente en el campo [6-8]. Además, observamos que los valores nunca superan los 200 mg/dL, que es el umbral considerado para la hipercolesterolemia en casi la mayoría de los trabajos experimentales actuales, por lo que la dinámica se encuentra entre valores fisiológicos normales y en concordancia con otros estudios. [2, 3, 4, 8]

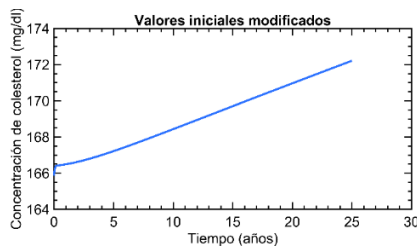


Figura 2. Dinámica observada con las condiciones iniciales modificadas.

Por lo que podemos determinar que el modelo es válido, ya que no solo cumple los criterios de salud sobre los niveles plasmáticos de colesterol [3,5], sino que también es capaz de representar una dinámica descrita en estudios sobre el efecto de la vejez sobre los mecanismos fisiológicos de la homeóstasis del colesterol.

3.2. Análisis de sensibilidad

A continuación, se ha realizado un análisis de sensibilidad de ciertos parámetros clave en el el metabolismo del colesterol. Este análisis puede proporcionar más información acerca de qué procesos, al modificarse su eficacia, van a concluir en un aumento o disminución de la concentración sanguínea de colesterol.

Para ello, se han realizado varias simulaciones como parte del análisis, en las que se irá reduciendo el rendimiento de cada proceso en un porcentaje del total. En todas las simulaciones (menos en la de reducción del consumo de colesterol en la dieta, en la que la reducción será de 50% en 50%) se disminuirá cada parámetro en un 25% hasta llegar al 50% de capacidad total de cada reacción. Las simulaciones efectuadas proporcionan datos cualitativos sobre la sensibilidad de los parámetros escogidos, lo que nos permitirá realizar comparaciones e incluso deducir la viabilidad de esos parámetros como dianas o su uso diagnóstico.

El primer parámetro analizado es la síntesis de colesterol hepático. Esta ruta bioquímica está controlada por una serie de enzimas, siendo la más importante la HMG-CoA reductasa. Los resultados de las simulaciones (Figura 3) coinciden con los de otros autores [3, 8], demostrando que este parámetro es muy sensible a los cambios, por lo que una disminución de la síntesis en el hígado incide en una bajada sustancial de la concentración plasmática de colesterol [3, 4, 6, 8].

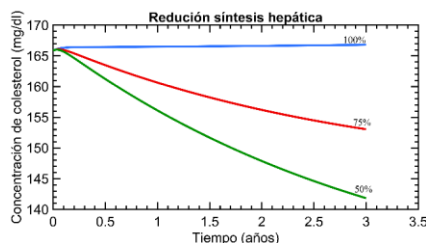


Figura 3. Dinámica del modelo al reducir la síntesis hepática de colesterol.

Este hecho se explota en los tratamientos farmacológicos contra la hipercolesterolemia, ya que estos compuestos inhiben a la enzima anteriormente mencionada, impidiendo la síntesis de colesterol endógeno. Por lo tanto, el modelo

propuesto refuerza el conocimiento existente sobre el uso de estas terapias.

Otro parámetro de interés es la disminución de la reabsorción de las sales biliares excretadas al lumen intestinal. Estas sales pueden ser reabsorbidas en su mayoría por los enterocitos o pueden ser excretadas, con una pérdida de colesterol neta, en las heces. Este parámetro resulta ser de los más sensibles a los cambios, haciendo que, al reducir la reabsorción en un 50%, haya una disminución drástica (se estabiliza aproximadamente a 21 mg/dL) de la concentración sanguínea. Estos comportamientos pueden ser observados en la Figura 4

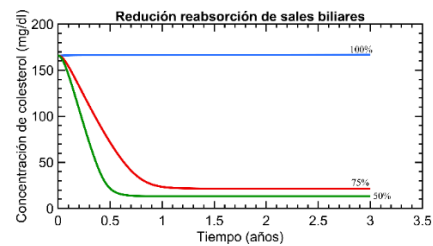


Figura 4. Dinámica del modelo al reducir la reabsorción de las sales biliares por parte de los enterocitos.

Este efecto es buscado por los secuestradores de ácidos biliares, unos fármacos que impiden la reabsorción de éstos, y que no están entre los principales agentes hipolipidémicos utilizados en terapia debido a que las estatinas son más eficaces [9] (al contrario que lo observado en nuestros resultados). Este hecho contradictorio con nuestras simulaciones puede deberse a la falta de un compartimento separado de los tejidos periféricos que es el intestino delgado, un órgano de vital importancia en la regulación del metabolismo del colesterol al ser un lugar de síntesis y almacenamiento, así como una zona de absorción de colesterol exógeno.

El siguiente proceso analizado es la ingesta de colesterol en la dieta. En las simulaciones, este parámetro resultó ser el más sensible (más incluso que las estatinas) al disminuir de manera muy importante y crítica el colesterol en sangre (Figura 5). A la hora de tratar o prevenir la hipercolesterolemia, lo primero que se recomienda es la disminución del consumo de alimentos altos en colesterol. Este hábito ayuda al control de los niveles de este compuesto en sangre, aunque no suele ser tan sensible en los estudios clínicos y biológicos [5]. Esto puede deberse a la misma causa que antes indicada para la reabsorción de sales biliares, lo que que incide en la necesidad de expandir el modelo propuesto para incluir dichas características para una mejor descripción de las dinámicas fisiológicas detrás de la homeóstasis del colesterol.

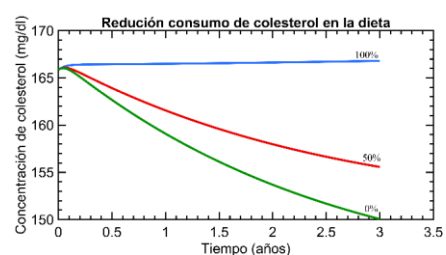


Figura 5. Dinámica del modelo al reducir el consumo de colesterol en la dieta.

Para terminar, se ha realizado el análisis de la actividad de la enzima CETP, que es la encargada de transportar el colesterol desde las HDL a las VLDL, lo que refuerza la permanencia de éste en la sangre. En los últimos años se han sintetizado numerosos fármacos inhibidores de esta enzima, ya que se teorizó una potente actividad hipocolesterolemia, que se encuentran en diferentes fases de ensayos clínicos [1, 10]. Por ello, se ha considerado importante medir la sensibilidad de este proceso, al poderse esclarecer la eficacia o no de este tipo de terapia. Como observamos en la Figura 6, la reducción de la actividad tiene poco efecto sobre los niveles de colesterol en sangre. En este sentido, el modelo es muy poco sensible a las modificaciones de dicha actividad. Incluso su disminución conlleva un ligero aumento de dichos niveles, aunque casi de manera imperceptible.

Estos datos concuerdan con los ensayos clínicos realizados en los que ningún compuesto inhibidor de la enzima CETP ha llegado a superarlos al no modificar la cantidad de colesterol en sangre e incluso teniendo efectos adversos [1, 10], pudiendo deberse a ciertas interferencias entre procesos todavía desconocidos implicados en la fisiología del colesterol.

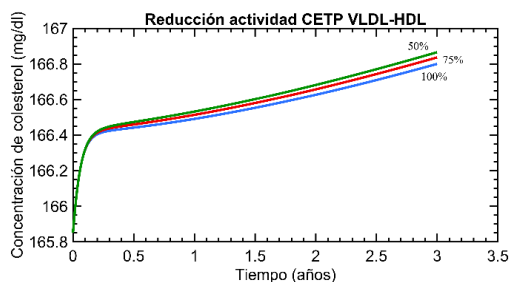


Figura 6. Dinámica del modelo al reducir la actividad CETP.

El resto de parámetros no ha sido incluido en el estudio debido a su poca influencia en la dinámica del modelo.

Finalmente, es de importancia recalcar que el análisis de sensibilidad no sólo ha permitido estudiar qué parámetros poseen una mayor influencia sobre los comportamientos dinámicos del modelo, sino que también reafirman la validez del mismo, al mimetizar resultados experimentales [3-10]. Además, esto nos ayuda a afirmar que la modificación de las condiciones iniciales de las simulaciones se debe a una parametrización errónea y no a una estructura del modelo que, realmente, no fuera la correcta, ya que al modificar los parámetros seguimos teniendo resultados estables.

4. Conclusiones

Mantener el colesterol sanguíneo en ciertos niveles es un proceso complejo y que puede fallar debido a múltiples causas. Establecer un modelo matemático que resume la dinámica de dichos procesos y que, además, nos ofrezca información acerca de éstos o pueda guiarnos a la hora de investigar terapias, es de vital importancia debido al escaso número de este tipo de modelos actualmente disponibles. El modelo propuesto en este trabajo describe las rutas metabólicas del colesterol, así como esclarece qué parámetros son más sensibles o apoya información de ensayos clínicos. Entre las líneas de trabajo futuras se

incluyen la adición de nuevos compartimentos como el intestino delgado, así como realizar una medición empírica de la mayoría de parámetros posible, dada la dificultad que existe para obtener los mismos. Esto nos proporcionaría una mejor aproximación en la descripción de la dinámica del transporte sanguíneo que nos permitiría ampliar la capacidad del modelo, así como el conocimiento generado por el mismo. Todo esto mejoraría nuestro entendimiento de todo el transporte del colesterol y de los mecanismos implicados en su metabolismo, lo que nos ayudaría a tratar la hipercolesterolemia y evitar una gran cantidad de muertes anuales, así como entender el funcionamiento de nuestro organismo.

Agradecimientos

Por último, agradecer a todas mis compañeras y compañeros que me han ayudado a mejorar este modelo con sus consejos, así como a mis profesores y profesoras que, entre todos, me han permitido ser capaz de realizar algo que hace unos años consideraba imposible.

Referencias

- [1] Gaudet D, Drouin-chartier J, Couture P, Frép C. Lipid Metabolism and Emerging Targets for Lipid-Lowering Therapy. *Can J Cardiol*, vol 33, sup 7, 2017, pp 872–82. (ISSN: 0828-282X)
- [2] Borja MS, Hammerson B, Tang C, Savinova O V, Shearer C, Oda MN. Apolipoprotein A-I exchange is impaired in metabolic syndrome patients asymptomatic for diabetes and cardiovascular disease. *PLoS One*, vol 12, sup 8, 2017, pp 1–16. (ISSN: 1932-6203)
- [3] Hrydziszko O, Wrona A, Balbus J, Kubica K. Mathematical two-compartment model of human cholesterol transport in application to high blood cholesterol diagnosis and treatment. *Electron Notes Theor Comput Sci*, vol 306, 2014, pp 19–30 (ISSN: 1571-0661)
- [4] August E, Parker KH, Barahona M. A Dynamical Model of Lipoprotein Metabolism. *Bulletin of Mathematical Biology*, vol 69, 2007, pp 1233–54 (ISSN: 0092-8240)
- [5] Selvakumar R, Rashith Muhammad M, Poornima Devi G. Computational model for monitoring cholesterol metabolism. *Syst Synth Biol*, vol 8, sup 4, 2014, pp 307–11. (ISSN: 1872-5325)
- [6] Mc Auley MT, Wilkinson DJ, Jones JLL, Kirkwood TBL. A whole-body mathematical model of cholesterol metabolism and its age-associated dysregulation. *BMC Syst Biol*, vol 6, pp 1-21 (ISSN: 1752-0509)
- [7] Morgan AE, Mooney KM, Wilkinson SJ, Pickles NA, Mc Auley. Mathematically modelling the dynamics of cholesterol metabolism and ageing. *BioSystems*, vol 145, 2016; pp:19–32 (ISSN: 1537-5110)
- [8] Paalvast, Yared & Kuivenhoven, Jan & Groen, Albert. Evaluating Computational Models of Cholesterol Metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, vol 1851, sup 3, 2015, pp 1360-76 (ISSN: 1388-1981)
- [9] Página web de Vademecum, secuestradores de Ácidos Biliares. <https://www.vademecum.es/atc-C10AC>. (Consultada: Septiembre 2017).
- [10] Página web de la National Lipid Association. <https://www.lipid.org/node/1898>. (Consultada: Septiembre 2017).

Imagen Biomédica IV

Viernes, 1 de Diciembre

Clasificación de Imágenes de Quemaduras Usando Características Físicas y Redes Neuronales Convolucionales

J. A. Pérez-Carrasco, C. Serrano, B. Acha

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

Resumen

Este trabajo está enfocado en la clasificación de imágenes de quemaduras. Esta clasificación se realiza principalmente según la profundidad de las mismas. Sin embargo, la tasa de acierto en la determinación de estas quemaduras no es muy alta, con valores desde 50% en cirujanos inexpertos hasta 76% en cirujanos expertos. La determinación de la profundidad es crucial para determinar los primeros tratamientos para el paciente. Sin embargo, mantener una unidad de quemados es muy caro, con lo que sería muy útil y deseable disponer de un sistema automático de clasificación para ayudar durante las primeras evaluaciones en centros médicos o de urgencias, donde hay escasez de profesionales.

La clasificación de quemaduras se ha implementado considerando tres categorías: superficial (segundo grado superficial), profunda (segundo grado profunda) y de espesor total (tercer grado).

En el presente trabajo se han combinado características matemáticas, obtenidas a partir de características físicas de las quemaduras, con características obtenidas a partir de una red neuronal convolucional. La combinación de estas características ha sido utilizada para entrenar un clasificador SVM y, mediante un proceso de selección de características, se ha obtenido un conjunto reducido de características que proporciona los mejores resultados de clasificación. En particular, se ha obtenido una tasa de clasificación del 75% cuando la clasificación es en las tres categorías mencionadas, y un 88% cuando la clasificación se realiza en dos categorías: quemaduras que necesitan injertos y aquellas que no.

Las tasas de clasificación aportadas mejoran los resultados publicados en trabajos anteriores.

1. Motivación

Las heridas por quemadura tienen que ser diagnosticadas tan pronto como sea posible para proporcionar un primer tratamiento adecuado [1]. Cuando se diagnostica una quemadura, los principales factores que se tienen en cuenta son: profundidad, área quemada y localización. Las quemaduras se pueden clasificar en tres tipos principales: quemaduras de segundo grado superficial, quemaduras de segundo grado profundo (profundas) y quemaduras de tercer grado (espesor total). Las quemaduras de primer grado no han sido tenidas en cuenta porque normalmente son debidas al Sol y no suelen requerir intervención médica. Las quemaduras también se pueden clasificar en un conjunto de dos categorías: quemaduras que curan espontáneamente y que no necesitan injertos, y quemaduras que no curan por sí solas y que necesitan injertos. Las quemaduras de primer grado (debidas principalmente al Sol) y de segundo

superficial pertenecen al primer grupo. Las de segundo grado profundo y tercer grado al segundo grupo.

Determinar la profundidad de una quemadura es un paso crucial y complicado [2][3]. Esta determinación se lleva a cabo a partir de información de color y textura principalmente. En los últimos años se han propuesto muchas herramientas de diagnóstico automático para asistir en la determinación de la profundidad [4-11], siendo las herramientas basadas en el uso de cámaras digitales las más interesantes debido al bajo precio [8-11].

En los trabajos de Acha y col., [10] y Serrano y col., [11] se determinaron características muy útiles analizando la información de color y textura de las quemaduras. Además, las técnicas de aprendizaje profundo (*deep learning*) y el uso de redes neuronales convolucionales están consiguiendo resultados muy prometedores en tareas de clasificación [12][13].

En este trabajo, diferentes características matemáticas obtenidas a partir de características físicas presentes en quemaduras [10][11] se han combinado con características proporcionadas por una red neuronal convolucional con la intención de proporcionar el conjunto de características más efectivo para implementar la clasificación de quemaduras. Además, se ha llevado a cabo un proceso de selección de características para reducir el número de características manteniendo la tasa de clasificación.

2. Implementación

En el trabajo de Acha y col., [10] los autores analizaron las características físicas que los médicos y especialistas tienen en cuenta a la hora de evaluar una quemadura y trasladaron esas características físicas a características matemáticas que sí pueden ser clasificadas por un ordenador. Los autores proporcionaron un conjunto de ocho características (calculadas en los espacios RGB y La*b*). Estas características, que serán etiquetadas en este trabajo como *physical features*, son croma ($C_{a,b}^*$), valores extremos (*outliers*, O_{RGB}), tono (h), variación de tonalidad (v_{h^*}), asimetría de a* (sk_{a^*}), asimetría de b* (sk_{b^*}), medida de asimetría ($SK_{0.25}$) y curtosis de a* (k_{a^*}). El cálculo de estas características y su significado físico se describen en detalle en [10].

para cada uno de los 316 parches de color. Finalmente, el conjunto de 20 características físicas de entrenamiento (de tamaño 20x8) es combinado con el conjunto de 20x64 características $cn_{features}$ para construir un nuevo conjunto de características de entrenamiento de tamaño 20x72. Igual ocurre para el conjunto de test. Los 296 vectores de características $physical_{features}$ se combinaron con el conjunto de 296 $cn_{features}$ cada uno de tamaño 1x64 para crear un nuevo conjunto de 296 vectores de características de test de tamaño 296x72. La estrategia seguida para la combinación de estas características se detalla en la Fig. 3.

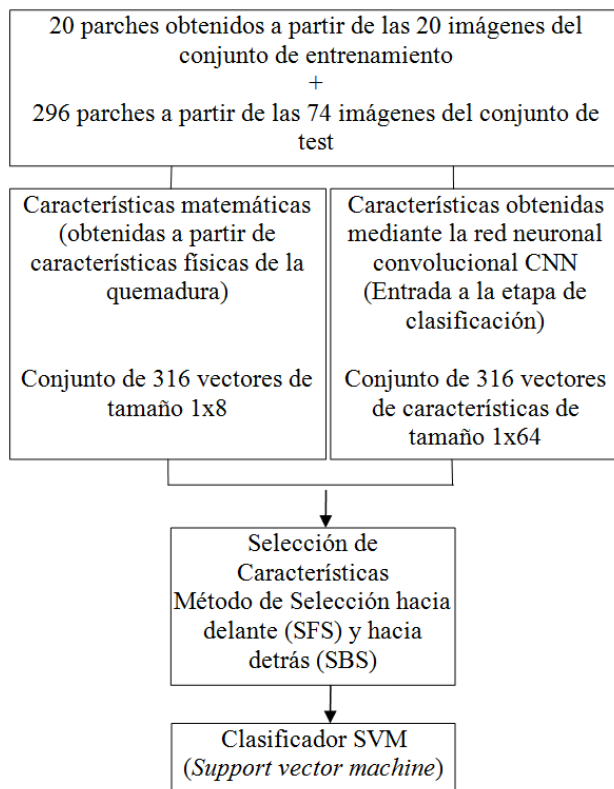


Figura 3. Diagrama de flujo del algoritmo empleado para clasificación

La clasificación en tres categorías de las imágenes de quemaduras es implementada en la última etapa del algoritmo mediante un clasificador SVM [16]. Para evitar problemas de sobreajuste (*overfitting*) se llevó a cabo una tarea de selección de características. Para ello, se emplearon las técnicas de selección de características hacia delante y hacia detrás (*SFS* y *SBS* respectivamente) para determinar qué características de las 72 seleccionadas (8 características físicas y 64 de la red CNN) eran las más discriminatorias en la tarea de clasificación [10][11]. En primer lugar, y haciendo uso de las 72 características numéricas, el clasificador SVM y la técnica de selección de características hacia delante fueron empleados. Para ello la técnica de selección empezó con una sola característica y fue añadiendo características hasta obtener el conjunto de características que proporcionaba mejor resultado de clasificación. A continuación el proceso se repitió utilizando la técnica de selección hacia detrás y empezando con las 72

características. En cada iteración se eliminaban aquellas que no mejoraban el resultado clasificatorio. El proceso terminaba cuando se obtenía el conjunto de características que proporcionaba el mejor resultado en la clasificación. Finalmente, los dos conjuntos de características obtenidas mediante *SFS* y *SBS* fueron agrupados y la técnica de selección hacia detrás permitió obtener el conjunto final más reducido de características con los mejores resultados de clasificación.

Utilizando el conjunto de 20x72 vectores de características de entrenamiento y el conjunto de 296x72 vectores de características de test, las características que proporcionaban los mejores resultados en la clasificación en 3 categorías fueron:

$$fts_{3cat}=[C_{a*b} \ h \ sk_{b*} \ cn_{features}(13) \ cn_{features}(34) \ cn_{features}(39)] \quad (1)$$

La clasificación en 2 categorías (quemaduras que requieren injertos y quemaduras que no lo requieren) fue implementada repitiendo todo el proceso descrito anteriormente. El conjunto de características obtenido en este caso fue:

$$fts_{2categories}=[C_{a*b*} \ sk_{b*} \ cn_{features}(39) \ cn_{features}(44) \ cn_{features}(58)] \quad (2)$$

3. Resultados Experimentales

En este apartado se muestran los resultados de clasificación en dos y tres categorías utilizando un clasificador SVM. Además, en la clasificación en dos categorías, se llevó a cabo un análisis de falsos positivos (FP), verdaderos positivos (TP), falsos negativos (FN) y verdaderos negativos (TN). Los verdaderos positivos (TP) corresponden a imágenes clasificadas correctamente como "necesita injerto". Falsos positivos (FP) son aquellas imágenes clasificadas por el algoritmo como "necesita injerto" cuando realmente son superficiales (no necesita injerto). Los falsos negativos (FN) corresponden a quemaduras clasificadas por el algoritmo como superficiales cuando en realidad son quemaduras de segundo grado profundo o tercer grado y finalmente, los verdaderos negativos (TN) corresponden a quemaduras clasificadas correctamente como "no necesita injerto".

Los resultados, que han sido obtenidos utilizando la misma base de datos [15] usada en los trabajos realizados por Acha y col., [10] y Serrano y col., [11], se muestran en la Tabla 1. Como se puede observar en la tabla, los resultados mejoran aquéllos proporcionados en [10][11]. Más específicamente, con la implementación descrita en este trabajo, la tasa de clasificación en tres categorías es de 75% (66.2% en el trabajo de Acha y col., [10]) y de 88.2% cuando la clasificación es en 2 categorías (82.4% en el trabajo de Acha y col., [10] y 79.73% en el trabajo de Serrano y col., [11]).

	Tasa de Clasificación	Acha y col. [10]	Serrano y col. [11]
Clasificación en 3 categorías	75%	66.2%	--
Clasificación en 2 categorías	88.2%	82.4%	79.73%
Verdaderos Positivos	145	31	38
Falsos Positivos	24	5	14
Falsos Negativos	11	8	1
Verdaderos Negativos	116	30	21
Sensibilidad (S)	0.936	0.80	0.97
Especificidad (E)	0.814	0.86	0.60
PPV	0.849	0.86	0.73
NPV	0.919	0.79	0.95

Tabla 1. Resultados de Clasificación

4. Conclusiones

La determinación de la profundidad de una quemadura es crucial en el diagnóstico de la misma y para proporcionar el tratamiento correspondiente más adecuado. En este trabajo se presenta una estrategia que combina características matemáticas obtenidas a partir de características físicas de las quemaduras y características obtenidas a través de una red neuronal convolucional. La combinación de tales características junto con el uso de un clasificador SVM mejoran los resultados de clasificación en comparación a los resultados que se obtendrían si se usaran los dos conjuntos de características por separado sin la combinación efectuada. Además, el algoritmo mejora los resultados publicados anteriormente, proporcionando tasas de clasificación de 75% cuando la clasificación se realiza en 3 categorías y de 88.2% cuando la clasificación se realiza en dos categorías.

En trabajos futuros se tratará de analizar el significado físico de las características extraídas por la red neuronal con la intención de optimizar la arquitectura de la misma.

Agradecimientos

El trabajo ha sido cofinanciado a través de los proyectos P11-TIC-7727, (Junta de Andalucía) y DPI2016-81103-R (Ministerio de Economía y Competitividad, Gobierno de España, Plan Retos, 2013-2016).

Referencias

- [1] Atiyeh BS, Gunn SW, Hayek SN. State of the art in burn treatment. *World J Surg*, vol. 29, 2005, pp 131-48 (ISSN: 0364-2313).
- [2] Roa LM, Gómez-Cía T, Acha B, Serrano C. Digital imaging in remote diagnosis of burns. *Burns*, vol. 25, sup 7, 1999, pp 617-24 (ISSN: 0305-4179).
- [3] Hlava P, Moserova J, Konigova R. Validity of clinical assessment of the depth of a thermal injury. *Acta Chir Plast*, vol. 25, 1983, pp 202-8 (ISSN: 0001-5423).
- [4] Rangayyan RM. Biomedical image analysis. CRC Press, 2005 (ISBN: 9780849396953).
- [5] Doi K. Computer-aided diagnosis in medical imaging. Historical review, current status and future potential. *Comput Med Imaging Graphics*, vol 31, sup 4-5, 2007, pp 198-211 (ISSN: 0895-6111).
- [6] Tylman W, Janicki M, Napieralski A. Automatisation of computer-aided burn wounds evaluation. *Proceedings of Int. Conf. Mixed Design of Integrated Circuits and Systems (MIXDES'12)*, Warsaw, 2012, pp 535-538 (ISBN: 9781457720925).
- [7] Yeong EK, Hsiao TC, Chiang HK, Lin CW. Prediction of burn healing time using artificial neural networks and reflectance spectrometer. *Burns*, vol 31, 2005, pp 415-20 (ISSN: 0305-4179).
- [8] Acha B, Serrano C, Acha JI, Roa LM. Segmentation and classification of burn images by color and texture information. *J Biomed Opt*, vol 10, sup 3, 2005, pp 1-11 (ISSN: 1083-3668).
- [9] Kaartinen IS, Valisuo PO, Alander JT, Kuokkanen HO. Objective scar assessment-a new method using standardized digital imaging and spectral modelling. *Burns*, vol 37, sup 1, 2011, pp 74-81 (ISSN: 0305-4179).
- [10] Acha B, Serrano C, Fondón I, Gómez-Cía T. Burn depth analysis using multidimensional Scaling applied to psychophysical experiment data. *IEEE Trans. Med Imaging*, vol 32, sup 6, 2013, pp 1111-20 (ISSN: 0278-0062).
- [11] Serrano C, Boloix-Tortosa R, Gómez-Cía T, Acha B. Features identification for automatic burn classification. *Burns*, vol 41, 2015, pp 1883-1890 (ISSN: 0305-4179).
- [12] Gonzalez RC, Woods RE. Digital image processing. third ed. Prentice Hall, 2008 (ISBN: 013168728X).
- [13] Tran HS, Le TH, Nguyen TT. The Degree of Skin Burns Images Recognition using Convolutional Neural Network. *Indian Journal of Science and Technology*, vol 9, sup 45, 2016, pp 1-6 (ISSN: 0974-6846).
- [14] Página web de Krizhevsky A: cuda-convnet code. <https://code.google.com/archive/p/cuda-convnet/> (Consultada: Septiembre 2017).
- [15] Página web de base de datos Burns_BIP_US database. http://personal.us.es/rboloix/Burns_BIP_US_database.zip (Consultada: Septiembre 2017).
- [16] Cortes C, Vapnik V. Support-vector networks. *Machine Learning*, vol 20, sup 3, 1995, pp 273-97 (ISSN: 1573-0565).

Algoritmo de segmentación de lesiones pigmentadas de la piel basado en minimización de energías

M. García-Morales¹, B. Acha¹, C. Serrano¹

¹ Departamento de Teoría de la Señal y Comunicaciones, Escuela Técnica Superior de Ingeniería, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, {mergarciam@gmail.com, bacha@us.es, cserrano@us.es}

Resumen

El objetivo de este trabajo ha sido el desarrollo de un nuevo algoritmo de segmentación de lesiones pigmentadas de la piel basado en minimización de energía mediante relajación convexa [1], utilizando imágenes dermatoscópicas. Se han propuesto distintas funciones de minimización. Los resultados obtenidos se han evaluado con medidas de evaluación de región, de contorno y de tiempo, obteniéndose una precisión de 0.9172

1. Introducción

El cáncer de piel, a día de hoy, es uno de los cánceres con mayor incidencia. Sin embargo, no es el de mayores tasas de mortalidad gracias a su detección precoz.

Los expertos clínicos hacen uso del dermatoscopio cuando deben inspeccionar un lunar sospechoso o una lesión pigmentada. El dermatoscopio es un instrumento óptico que está formado por una lente óptica, que, además de, introducir un aumento que puede variar entre 10 y 40, permite realizar fotografías, dando la opción al experto clínico de guardar un registro de la evolución de los lunares del paciente.

Actualmente hay una gran cantidad de trabajos que proponen abordar el problema de la segmentación automática de lesiones pigmentadas utilizando distintos tipos de técnicas de segmentación, como, por ejemplo, basándose en umbralizaciones de color o texturas [2-4], en vecindarios adaptativos [5] o en problemas de optimización [6-7]. Sin embargo, hasta la fecha, no se ha propuesto ningún método de minimización de energías mediante relajación convexa, basado en [1], orientándolo a imágenes dermatoscópicas, aunque sí hay otras propuestas para imágenes procedentes de RM y TAC [8-9]

2. Metodología

El trabajo se ha dividido en tres fases, tal y como se puede apreciar en la Figura 2-1. En la primera fase, preprocesamiento, se ha realizado una pre-segmentación. En la segunda fase, segmentación, se ha obtenido la función de costes de cada píxel y se ha aplicado el algoritmo de segmentación por minimización de energía. Se han propuesto cuatro versiones diferentes para la estimación de la función de costes. Por último, en la tercera fase, postprocesamiento, se han aplicado Matemáticas Morfológicas para adecuar los resultados obtenidos tras la segmentación.

2.1. Preprocesamiento

En el procesamiento, para todas las imágenes se ha aplicado los siguientes pasos:

1. Filtrado gaussiano de tamaño 20x20.
2. Umbralización de Otsu.
3. Operación morfológica de dilatación con un elemento disco y de tamaño 5.

Como se verá en la Sección 2.2 la pre-segmentación obtenida con el algoritmo de Otsu se empleará para la estimación de los parámetros necesarios para el cálculo de las funciones de minimización al aplicar el algoritmo de relajación convexa.

2.2. Segmentación

En esta fase, se ha realizado la segmentación basada en el algoritmo de minimización de energía mediante relajación convexa. La función a minimizar en este algoritmo se define del siguiente modo [1]:

$$\min_{u_i} \sum_{i=1}^n \int_{\Omega} u_i(x) \rho_i(x) dx + \alpha \sum_{i=1}^n \int_{\Omega} |\nabla u_i| dx$$

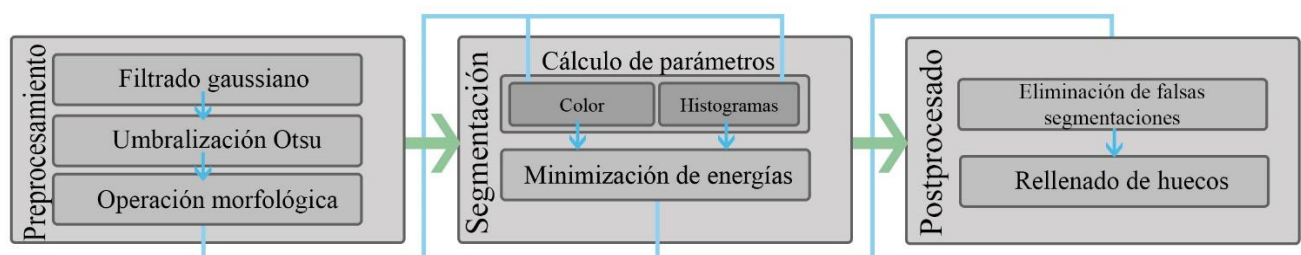


Figura 2-1. Esquema de los algoritmos

$$\text{Sujeta a: } \sum_{i=1}^n u_i = 1; u_i \geq 0, i = 1, \dots, n$$

En esta ecuación, x representa la posición del píxel, $u_i(x) \in [0,1]$ representa las etiquetas, que en lugar de utilizar valores binarios (como ocurre en una optimización no convexa), pueden tomar valores reales entre 0 y 1. $\rho_i(x)$ es una función que toma valores bajos dentro de la región i y valores altos fuera de ella.

En este trabajo las funciones $\rho_i(x)$ se han calculado de cuatro maneras diferentes:

Algoritmo 1: Se emplean dos etiquetas en la minimización.

$\rho_0(x) = \|\mathbf{p}(x) - \boldsymbol{\mu}_0\|$ y $\rho_1(x) = \|\mathbf{p}(x) - \boldsymbol{\mu}_1\|$, en donde $\mathbf{p}(x)$ representa el color del píxel y $\boldsymbol{\mu}_0$ y $\boldsymbol{\mu}_1$ los colores medios fuera y dentro de la lesión, respectivamente. Estos dos parámetros se estiman como los valores medios fuera y dentro de la región segmentada por Otsu.

Algoritmo 2: Se emplean cuatro etiquetas para la minimización, una se corresponde con la piel sana y tres con la lesión. $\rho_i(x)$ se calcula como $\rho_i(x) = \|\mathbf{p}(x) - \boldsymbol{\mu}_i\|$,

donde $\boldsymbol{\mu}_i$ se corresponde con el color medio de los píxeles pertenecientes a esa etiqueta. $\boldsymbol{\mu}_0$ se estima como en el algoritmo 1. Los otros tres parámetros se estiman como los centroides resultantes de aplicar el algoritmo de *k-means* a los colores de los píxeles pertenecientes a la región segmentada por Otsu.

Algoritmo 3: Se emplean 4 etiquetas, una correspondiente a la piel sana y tres a la lesión. $\rho_i(x)$ se calcula como la distancia χ^2 entre el histograma de la región correspondiente a esa etiqueta y el histograma local alrededor del píxel. El histograma correspondiente a la piel sana se calcula como un histograma local aleatoriamente elegido en la región exterior de la segmentación de Otsu. Los histogramas correspondientes a las regiones interiores a la lesión se calculan como histogramas locales aleatoriamente elegidos en la región segmentada por Otsu. Los histogramas se estiman empleando el algoritmo de *k-means* y 7 centroides, es decir, cada histograma tendrá 7 bins.

Algoritmo 4: Se emplean 5 etiquetas, dos correspondientes a la piel sana y tres a la lesión. La estimación de las 5 $\rho_i(x)$ se hace de manera idéntica a la descrita en el Algoritmo 3, con la diferencia de que los histogramas se estiman con 5 bins.

2.3. Postprocesamiento

El objetivo de esta última fase es mejorar la presentación de los resultados finales. Para ello se eliminan las posibles falsas segmentaciones aparecidas en las zonas sombreadas de la imagen o con artefactos. Para finalizar, se utilizan funciones basadas en matemáticas morfológicas, como *imfill*, de forma que se rellenen los posibles huecos que puedan aparecer en las regiones segmentadas.

3. Material

Las imágenes con las que se ha trabajado proceden del *Challenge* lanzado por el *IEEE International Symposium on Biomedical Imaging (ISBI)* de 2017, “Challenge on Sking Lesion Analysis Towards Melanoma Detection”. [10].

En dicho desafío se provee a los participantes de una base de datos compuesta por 2.000 imágenes de distintos tipos de lunares. Cada una de éstas viene acompañada con una imagen de referencia, denominada *Ground Truth* o verdad de referencia, o delineación de la lesión realizada por el experto clínico de manera manual o semiautomática.

Para el desarrollo de este trabajo, se han seleccionado 30 imágenes de manera aleatoria, abarcando distintos tipos de lunares.

4. Métodos de evaluación

A la hora de valorar la calidad de cada uno de los algoritmos se han obtenido medidas relacionadas con la región segmentada y con el contorno de ésta. Por último, se ha calculado el tiempo de segmentación.

4.1. Evaluación de la región segmentada

En la evaluación de la región segmentada se han utilizado las medidas de la Sensibilidad [11-12], la Especificidad [10], la Exactitud, el índice de Jaccard [13], el coeficiente Dice [14], el PPV [11] y la Conformidad [12].

4.2. Evaluación de contorno

Para la evaluación del contorno de la región se ha medido la MDCP (*Mean Distance to the Closest Point*) [15] y la distancia Hausdorff [15]. En este caso se ha medido la distancia entre el contorno obtenido por el algoritmo y la verdad de referencia.

Debido a que las imágenes proporcionadas por el desafío tienen tamaños completamente diferentes, se han agrupado por tamaños similares. Esto se ha realizado con el fin de establecer restricciones de calidad razonables para cada tipo de dimensión de imágenes. Para el caso de la MDCP se ha establecido un 5% del tamaño promedio de las imágenes de cada grupo, medido en píxeles, es el límite para considerar una segmentación de calidad aceptable. Para la distancia Hausdorff, este límite se ha establecido en un 10%.

4.3. Evaluación de tiempo

Esta medida se toma como algo orientativo, simplemente para reflejar la diferencia del coste computacional que hay entre un algoritmo y otro. Este valor está medido en segundos.

5. Resultados

A continuación, se exponen los resultados obtenidos promediados entre las 30 imágenes con las que se ha trabajado. Para el caso de las medidas de contorno, estos

resultados están promediados entre el número de imágenes que compone cada grupo de imágenes formado.

5.1. Resultados de la evaluación de la región segmentada

En la Figura 5-1 se muestran los resultados obtenidos en la evaluación de la región segmentada para los métodos basados en colores medios y los de histogramas. Se puede percibir a primera vista que los resultados conseguidos para los métodos basados en colores medios son notablemente mejores que para los métodos que se basan en histogramas.

Dentro del método de colores, que las medidas de Sensibilidad η_{sb} , Especificidad y PPV sean mejores, en el caso de 2 etiquetas respecto al de 4 etiquetas se debe a que se están obteniendo menor cantidad de falsos positivos. En otras palabras, en el método de 4 etiquetas de color se está sobresegmentando la lesión, levemente.

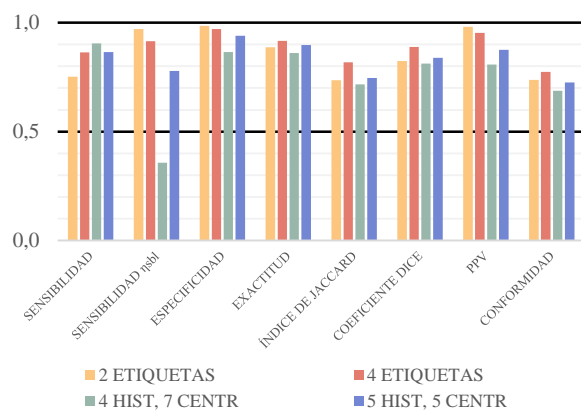


Figura 5-1. Resultados de la evaluación de la región.

5.2. Resultados de la evaluación del contorno

En las Figuras 5-2 y 5-3 se muestran los resultados obtenidos para la evaluación del contorno. En la línea de color rojo se ha señalado los límites establecidos para cada una de las medidas en función de los grupos correspondientes.

Se puede observar que, en el caso de la MDCP, Figura 5-2, salvo en el grupo 8, se cumplen dichas restricciones.

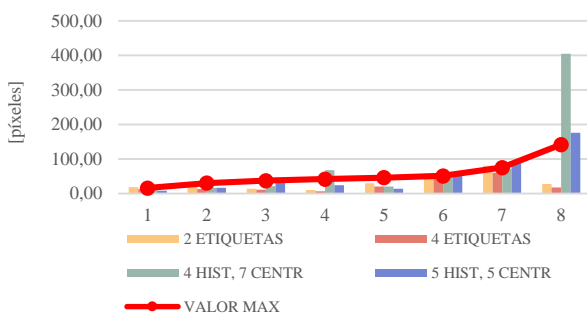


Figura 5-2. Resultados de la evaluación de contorno, MDCP.

En el caso de la distancia Hausdorff, Figura 5-3, se comprueba que las restricciones establecidas en el apartado 4.2, no se cumplen en los grupos de imágenes más grandes, especialmente para los métodos basados en histogramas,

ya que se han producido segmentaciones que difieren bastante de la verdad de referencia.

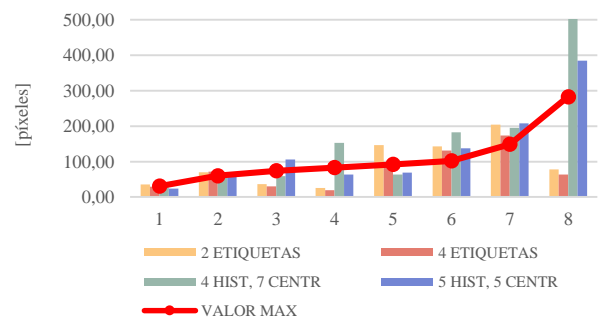


Figura 5-3. Resultados de la evaluación de contorno, distancia de Hausdorff.

5.3. Resultados de la evaluación del tiempo de ejecución

En la Figura 5-4 se observa que, el tiempo de ejecución ha ido aumentando en cuanto se ha ido incrementando la complejidad de los cálculos. Tal y como se ha comentado anteriormente, esta evaluación se ha hecho de una manera totalmente orientativa.

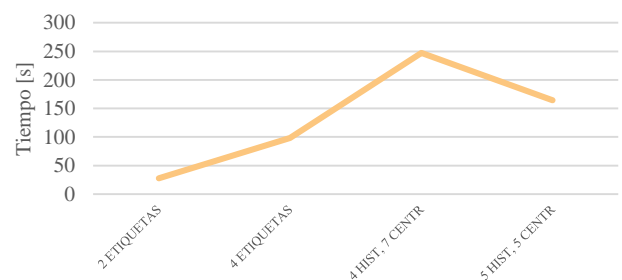


Figura 5-4. Resultados de la evaluación del tiempo de ejecución.

5.4. Resultados visuales

En la Figura 5-5 se muestran 4 ejemplos de los resultados obtenidos. En la primera fila de imágenes se representan las curvas de, por un lado, la verdad de referencia, mediante el color amarillo, y, por el otro lado, las de las máscaras obtenidas mediante los métodos basados en colores medios, de 2 y 4 etiquetas, representadas mediante los colores magenta y azul respectivamente.

En la segunda fila de imágenes se representan las curvas de las máscaras obtenidas mediante los métodos basados en histogramas locales, de 4 y 5 etiquetas, representadas mediante los colores verde y violeta claro respectivamente. La verdad de referencia se vuelve a representar con el color amarillo.

6. Conclusiones

El objetivo de este trabajo ha sido comparar la segmentación obtenida mediante minimización de energía por relajación convexa empleando distintas funciones objetivo. Es fácilmente observable que los métodos basados en colores se acercan mucho más a la verdad de referencia que los que se basan en histogramas, que, a

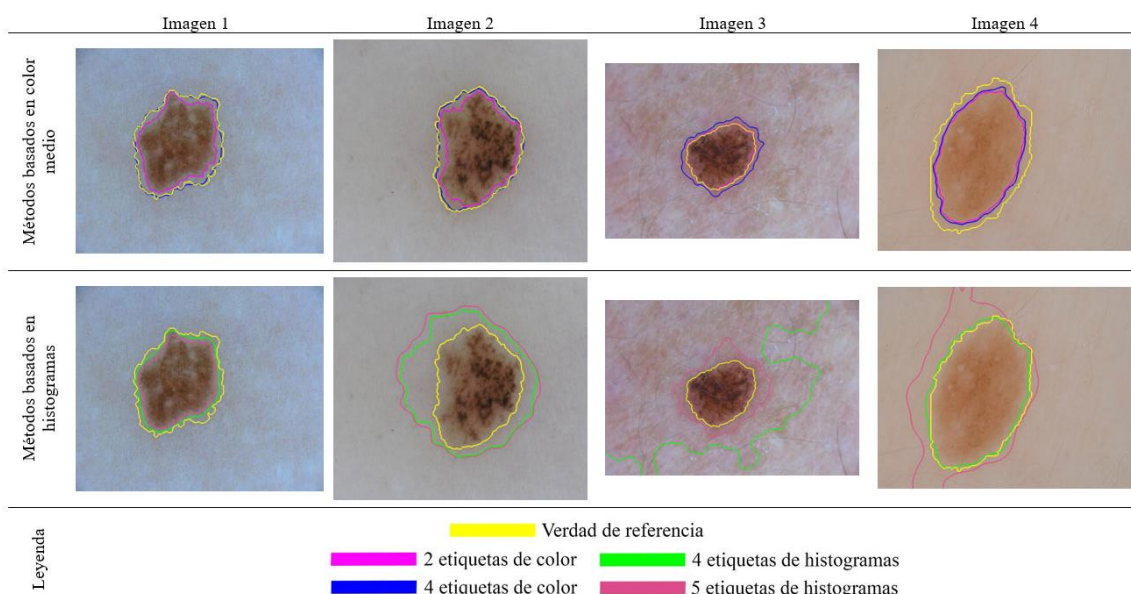


Figura 5-5. Resultados visuales de las máscaras obtenidas para los distintos tipos de métodos

veces, sobresegmentan demasiado. Obteniendo una precisión, promediada entre las 30 imágenes con las que se ha trabajado, de 0.9172 para el caso de las 4 etiquetas de color. Se debe comentar que el hecho de la aleatoriedad al seleccionar los histogramas de referencia hace que dicho método no sea tan efectivo.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado con los proyectos DPI2016-81103-R, Plan Estatal 2013-2016 Retos, y P11-TIC-7727, Proyecto Excelencia Junta de Andalucía.

Referencias

- [1] Bae E, Yuan J, Tai XC. Global Minimization for Continuous Multiphase Partitioning Problems Using a Dual Approach. *International Journal of Computer Vision*, vol 92, n° 1, 2011, pp 112-129. (ISSN: 1573-1405).
- [2] Fernández J, Ciuhu C. Automatic Imaging System With Decision Support for Inspection of Pigmented Skin Lesions and Melanoma Diagnosis. *IEEE Journal of Selected Topics in Signal Processing*, vol. 3, n° 1, pp. 14 - 25, 2009. (ISSN: 1941-0484).
- [3] Pirnóg I, Preda RO, Oprea C, Paleologu C. Automatic Lesion Segmentation for Melanoma Diagnostics in Macroscopic Images. *23rd European Signal Processing Conference (EUSIPCO)*, 2015. (ISBN: 978-0-9928-6263-3).
- [4] Humayun J, Malik AS y Kamel N. Multilevel thresholding for segmentation of pigmented skin lesions. *2011 IEEE International Conference on Imaging Systems and Techniques (IST)*, 2011. (ISBN: 978-1-61284-896-9).
- [5] González-Castro V, Debayle J, Wazaefi Y, Rahim M, Gaudy-Marqueste C, Grob JJ y Fertil B. Texture descriptors based on adaptative neighborhood for classification of pigmented skin lesions. *Journal of Electronic Imaging*, vol. 24, 2015.
- [6] Saéz A, Serrano C, Acha B. Model-Based Classification Methods of Global Patterns in Dermoscopies Images. *IEEE TRANSACTIONS ON MEDICAL IMAGING*, vol. 33, n° 5, pp. 1137 - 1147, 2014. (ISSN: 1558-254X).
- [7] Abbas Q, Fondón I y Rashid M. Unsupervised skin lesions border detection via two-dimensional image analysis. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, vol. 104, n° 3, pp. e1-e15, 2011.
- [8] Suárez-Mejías C, Pérez-Carrasco JA, Serrano C, López-Guerra JL, Parra-Calderón C, Gómez-Cía T, Acha B. Three-dimensional segmentation of retroperitoneal masses using continuous convex relaxation and accumulated gradient distance for radiotherapy planning. *Medical & Biological Engineering & Computing*, vol. 55, n° 1, pp. 1-15, 2017. (ISSN: 1741-0444).
- [9] Ukwatta E, Yuan J, Rajchl M, Qiu W, Tessier D, Fenster A. 3-D carotid multi-region MRI segmentation by globally optimal evolution of coupled surfaces. *IEEE TRANSACTIONS ON MEDICAL IMAGING*, vol. 32, n° 4, pp. 770-785, 2013. (ISSN: 1558-254X).
- [10] Página web de “ISIC 2017: Skin Lesion Analysis Towards Melanoma Detection” https://challenge.kitware.com/#challenge/n/ISIC_2017%3A_Skin_Lesion_Analysis_Towards_Melanoma_Detection (Consultada: Enero-Junio 2017).
- [11] Álvarez Cáceres R. El Método Científico en las Ciencias de la Salud. Vol 1. Ediciones Díaz de Santos, 1996 (ISBN: 9788479782375).
- [12] Chang HH, Zhuang AH, Valentino DJ, Chu WC. Performance measure characterization for evaluating neuroimage segmentation algorithms. *NeuroImage*, vol 47, 2009, pp 122-135.
- [13] Jaccard P. Étude comparative de la distribution florale dans une portion des Alpes et du Jura. *Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles*, vol 37, 1901, pp 547-579.
- [14] Página web de Wikipedia – Coeficiente de Sorensen-Dice https://es.wikipedia.org/wiki/Coeficiente_de_Sorensen-Dice (Consultada: Mayo-Junio 2017).
- [15] Banik S, Rangayyan RM, Boag GS. Landmarking and Segmentation of 3D CT Images, Morgan & Claypool, 2009 (ISBN: 9781598292848)

DetECCIÓN DE LESIONES ROJIZAS EN IMÁGENES DE FONDO DE OJO APLICANDO DIFERENCIAS DE COLOR EN EL ESPACIO CIELAB

R. Romero Oraá¹, M. García Gadañón¹, J. Jiménez García¹, M. I. López Gálvez^{2,3}, R. Hornero Sánchez¹

¹ Grupo de Ingeniería Biomédica, Universidad de Valladolid, Valladolid, España, {roberto.romero,jorge.jimenez}@gib.tel.uva.es, {margar,robhor}@tel.uva.es

² IOBA (Instituto de Oftalmobiología Aplicada), Universidad de Valladolid, España

³ Hospital Clínico Universitario de Valladolid, Valladolid, España, maribel@ioba.med.uva.es

Resumen

La retinopatía diabética (RD) es una importante causa de pérdida de visión en la población activa de los países desarrollados. Los sistemas automáticos basados en la detección de lesiones asociadas a la RD pueden ser de gran ayuda para el diagnóstico temprano de la enfermedad. El objetivo de este trabajo fue detectar automáticamente las lesiones rojizas (LR), entre las que se incluyen microaneurismas (MA) y hemorragias (HE). En primer lugar, en una etapa de preprocesado se normalizaron las imágenes de entrada. A continuación, se segmentaron las regiones candidatas a ser LR. Para ello se aplicó la técnica *DeltaE*, que mide diferencias de color, junto con un filtro Laplaciano de Gaussiana. Por último, se clasificaron los candidatos haciendo uso de una red neuronal *Multilayer Perceptron* (MLP). La base de datos (BD) empleada contenía 210 retinografías. El 50% presentaba algún tipo de LR y el otro 50% se correspondía con retinas sanas. La BD se dividió aleatoriamente en un conjunto de entrenamiento (105 imágenes) y en otro de test (105 imágenes). Considerando un criterio basado en píxel, se obtuvo una sensibilidad del 79.2% y un valor predictivo positivo del 76.3%. Con un criterio basado en imagen, se alcanzó un 81.8% de precisión, un 85.5% de sensibilidad y un 76.3% de especificidad.

1. Introducción

La retinopatía diabética (RD) es una complicación visual de la diabetes cuyo desarrollo desemboca en graves casos de pérdida de visión. De hecho, se trata de la principal causa de ceguera en la población activa de los países desarrollados [1]. El tratamiento de esta enfermedad es más efectivo en sus primeras etapas, lo que evidencia la importancia de un diagnóstico temprano. Además, dado que la RD no presenta síntomas hasta fases avanzadas, se hacen necesarios exámenes periódicos del fondo de ojo de los pacientes diabéticos. Sin embargo, la escasez de especialistas y la creciente incidencia de la diabetes dificultan el cribado o *screening* de toda la población diabética. En este contexto, los sistemas automáticos pueden resultar de gran ayuda para los especialistas en el diagnóstico de la enfermedad, reduciendo su carga de trabajo y mejorando la atención de los pacientes [2].

Los sistemas automáticos de *screening* se basan generalmente en la detección automática de lesiones características de las retinas con RD [3]. Estas son los exudados duros, los exudados algodonosos y las lesiones rojizas (LR), entre las que destacan los microaneurismas (MA) y las hemorragias (HE). Este estudio se ha centrado

en la detección de LRs, que se presentan en muchos casos como las primeras manifestaciones de la enfermedad [4].

En la literatura pueden encontrarse numerosos métodos para la detección de LRs en imágenes de fondo de ojo. La mayoría de estos métodos requieren una fase previa de procesado en la que se eliminan las principales estructuras de la retina (papila, fovea y vasos sanguíneos) [1-3,5]. Dentro de la detección de LRs, pueden encontrarse muchos trabajos donde únicamente se tratan de segmentar MAs [6,7]. Estas aproximaciones suelen estar basadas principalmente en morfología matemática, *region growing*, transformada *wavelet* o técnicas híbridas [1]. Para la detección de HEs, la segmentación se basa principalmente en morfología matemática y clasificación de píxeles [1]. Varios autores tratan de detectar al mismo tiempo tanto MAs como HEs [2,3,8]. Técnicas más recientes se basan en el método superpíxel [8], filtros Gabor [5] o técnicas de *flooding* más complejas [3].

Además de las propuestas mencionadas, también se aplica de manera habitual umbralización de regiones y clasificación de las mismas para discriminar las lesiones reales de falsos positivos [1]. Una aproximación bien utilizada para esta clasificación es el uso de redes neuronales artificiales (RNAs) [2]. Las principales características utilizadas en la clasificación están relacionadas con el color, la forma, el tamaño, la textura, el brillo o el contraste [1,2,6].

En este trabajo se propone un nuevo método de detección de LRs en el que se discriminan las lesiones por diferencia de color en el espacio CIELAB [9]. El método consta de varias fases. En la primera de ellas, (preprocesado) se trató de corregir la iluminación, reducir el ruido, mejorar el contraste y normalizar el color de la imagen. Posteriormente, se aplicó una fase de segmentación en la que se eliminaron la papila y los vasos sanguíneos y se aplicó la técnica *DeltaE* junto con un filtro Laplaciano de Gaussiana para obtener las regiones candidatas a ser LR. Por último, se configuró una RNA *Multilayer Perceptron* (MLP) para clasificar las LR.

2. Base de datos de retinografías

Para probar la efectividad del método, se empleó una base de datos (BD) de 210 retinografías. Fueron proporcionadas por el Instituto de Oftalmobiología Aplicada (IOBA) de la Universidad de Valladolid y

capturadas con el retinógrafo no midriático automático TRC-NW400 con un campo de visión (FOV) de 45°. La resolución de las imágenes fue de 1956×1934 píxeles en formato JPEG de 24 bits. Se incluyeron 105 imágenes de pacientes sin lesiones y 105 imágenes de pacientes con LRs. La BD se dividió de forma aleatoria en un conjunto de entrenamiento (105 imágenes) y otro de test (105 imágenes). Un oftalmólogo marcó de forma manual las LRs presentes en todas las imágenes, identificándose un total de 5618 LRs.

3. Métodos

La entrada del método propuesto fue la retinografía en color (I_{orig} , Figura 1(a)). En primer lugar, se obtuvo la máscara de la región de interés (M_{fov}), que separa el FOV del fondo negro circundante [10]. A continuación, se aplicó un preprocesado. Tras eliminar la red vascular [11] y la papila [10], se segmentaron las regiones candidatas a ser LR. Por último, se realizó una fase de clasificación de los candidatos. El método requiere dos parámetros espaciales: el diámetro de la FOV (D) y el diámetro del disco óptico (D_{do}), estimado como $D_{do} = \frac{D}{10}$ [3].

3.1. Preprocesado

Este paso trató de normalizar las imágenes y realzar las lesiones a detectar. Para ello:

- Ecuilización de iluminación: la iluminación de una retinografía típicamente no es uniforme, generando muchas veces un efecto viñeta [3]. Para resolverlo, se aplicó una corrección para cada canal de color, obteniéndose la imagen I_{ei} [3]:

$$I_{ei} = I_{orig} + \mu - I_{orig} * h_M, \quad (1)$$

donde h_M es un filtro de media de tamaño D_{do} y μ la intensidad media del canal.

- Eliminación del ruido: se aplicó un filtro de medias, cuyo tamaño se eligió de forma empírica, para atenuar el ruido sin perder LRs [3]. El resultado de esta operación es la imagen I_{er} .
- Ecuilización de contraste: la imagen con contraste mejorado, I_{ec} , se obtiene mediante ecuilización de contraste [3]. Para ello se aplicó un filtro de media, h_{M2} , cuyo tamaño se eligió de forma empírica. Siendo I_{std} la desviación típica local, I_{ec} se obtiene como [3]:

$$I_{ec} = I_{er} + (1 - I_{std}) \times (I_{er} * (1 - h_{M2})). \quad (2)$$

- Normalización del color: se estiró el histograma de cada canal de color de I_{ec} para recortarlo al rango $\mu \pm 3\sigma$, donde μ y σ son, respectivamente, la media y desviación típica de la intensidad del canal dentro de la FOV [3]. La respuesta final es la imagen I_{prep} , que se muestra en la Figura 1(b).

3.2. Segmentación de candidatos

En primer lugar, se analizó el color de la imagen aplicando la técnica *DeltaE*, que ofrece una representación de la distancia entre dos colores [9]. Para ello se utilizó el espacio de color CIELAB puesto que describe los colores de acuerdo a la percepción humana

[9]. De esta manera, la segmentación de candidatos se aproxima a la manera en que los propios oftalmólogos detectan visualmente las LRs. Se generó un mapa de probabilidad (I_{dc} , Figura 1(c)) calculando la distancia euclídea del color de cada píxel con un color de referencia. Este color de referencia se obtuvo como el color promedio de todas las LRs de las imágenes de entrenamiento normalizadas.

En segundo lugar, se estudiaron las variaciones rápidas de intensidad en el interior de la FOV que dan forma a los bordes de las LRs. En este caso, se partió de I_{prepGc} , el complemento de la componente verde de I_{prep} , que es la que presenta mayor contraste entre las LRs y el fondo retiniano [4]. Se aplicó un filtro Laplaciano de Gaussiana (LoG) de tamaño elegido empíricamente, obteniéndose la imagen I_{log} (Figura 1(d)).

A continuación, se combinó la información del color y los bordes de las LRs:

$$I_{cand} = (I_{log} \times I_{prepGc}) + I_{dc}. \quad (3)$$

Finalmente, la imagen I_{cand} se umbralizó para extraer las regiones de la imagen candidatas a ser LR, obteniéndose la imagen binaria M_{cand} :

$$M_{cand} = \begin{cases} 1, & I_{cand} \geq \mu \\ 0, & I_{cand} < \mu \end{cases}, \quad (4)$$

donde el umbral, μ , fue elegido empíricamente y siendo el mismo para todas las imágenes, tratando de no perder ninguna LR pero eliminando el resto de píxeles. Cabe mencionar que los parámetros elegidos empíricamente se optimizaron a partir de las imágenes de entrenamiento.

4. Clasificación

Una vez segmentadas las regiones candidatas a ser LR, se utilizó una red MLP para eliminar aquéllas que no son verdaderas lesiones. Este tipo de RNA se ha empleado anteriormente para la clasificación de LRs [2], [6]. Para ello, cada región candidata se representa por un conjunto de características que describen las propiedades que permiten a un oftalmólogo distinguir las LRs. Así, se extrajeron un total de 29 características [2]:

- Intensidad media para los canales RGB dentro de la región (1-3).
- Desviación típica para los canales RGB dentro de la región (4-6).
- Intensidad media para los canales RGB en torno a región (7-9).
- Desviación típica para los canales RGB en torno a la región (10-12)
- Valor de intensidad para los canales RGB en el centroide de la región (13-15).
- Tamaño de la región (16).
- Compacticidad de la región (17).
- Intensidad de bordes dentro de la región (18).
- Homogeneidad (entropía de Shannon) para los canales RGB dentro de la región (19-21).
- Diferencia de intensidad en los canales RGB (22-24).

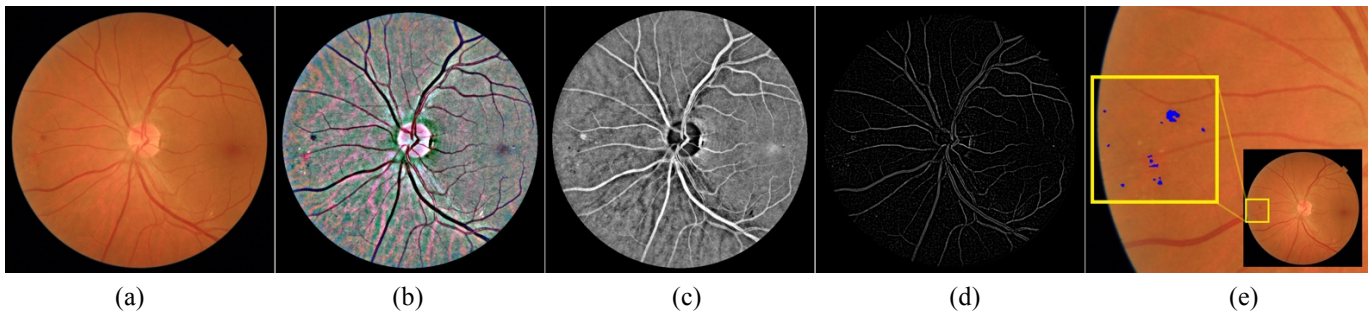


Figura 1. (a) Imagen original, I_{orig} . (b) Imagen preprocesada, I_{prep} . (c) Diferencia de color ΔE , $I_{\Delta c}$. (d) Imagen respuesta del filtro Laplaciano de Gaussiana, I_{log} . (e) Lesiones detectadas en una región de la imagen, M_{lr} .

- Circularidad de la región (25).
- Excentricidad de la región (26).
- Longitud de la región (27).
- Anchura de la región (28).
- Relación de aspecto (longitud/anchura) de la región (29).

Para disminuir los errores de clasificación, se realizó una selección del subconjunto de las características más adecuadas para la tarea de clasificación [12]. Se aplicó la técnica *Fast Correlation Band Filter* (FCBF), con la que se prioriza la relevancia de las diferentes características para el problema en particular y se elimina la redundancia entre ellas [13].

Como clasificador se eligió una red MLP con 3 capas. La capa de entrada contenía tantas neuronas como el conjunto de características seleccionadas. Se eligió una única capa oculta ya que es suficiente para resolver cualquier problema de clasificación, siempre que ésta tenga suficiente número de neuronas [12]. Como función de activación en la capa oculta se eligió la función tangente hiperbólica [2]. La capa de salida se configuró con una única neurona, suficiente para un problema de clasificación binaria [12]. La función de activación elegida para la capa de salida fue la función logarítmica sigmoidea, en el rango 0-1, puesto que permite interpretar la salida como una probabilidad a posteriori [2]. Para evitar el sobreentrenamiento y mejorar la generalización, se utilizó regularización (parámetro de regularización ν). En el entrenamiento de la RNA se optimizaron ν y el número de neuronas de la capa oculta, n_{oc} . Para ello se aplicó validación cruzada con 10 repeticiones y se normalizaron las características de entrada al clasificador (media=0, desviación típica=1) [12]. Como resultado de la etapa de clasificación se obtuvo la imagen M_{lr} en la que se eliminaron parte de las regiones candidatas en M_{cand} , tal y como se puede observar en la Figura 1(e).

5. Resultados

5.1. Selección de características

Con la segmentación de candidatos en las 105 imágenes del conjunto de entrenamiento, se extrajeron 2000 regiones correspondientes a LRs y 2000 regiones que no lo eran, quedando ambos grupos balanceados. Sobre este conjunto de características se aplicó el algoritmo FCBF, obteniéndose como resultado un conjunto reducido de 12

características. En concreto, se seleccionaron las características 1, 3, 4, 6, 7, 11, 16, 17, 19, 25, 26 y 29.

5.2. Optimización de parámetros del clasificador

Para obtener los valores óptimos de ν y n_{oc} , se variaron dichos parámetros en los siguientes rangos: $\nu=[0-50]$ y $n_{oc}=[1-500]$, en las imágenes de entrenamiento. Se aplicó validación cruzada con 10 repeticiones sobre las regiones candidatas extraídas del conjunto de entrenamiento. Los parámetros para los que se obtuvo la mayor precisión media sobre el conjunto de validación fueron $\nu=4$ y $n_{oc}=12$.

5.3. Resultados sobre el conjunto de test

Una vez configurados los distintos parámetros del método y entrenada la red MLP, se obtuvieron los resultados sobre el conjunto de test. Para ello, se compararon los resultados del método automático con las anotaciones del oftalmólogo. Se utilizaron dos criterios distintos. En primer lugar, con un criterio orientado a píxel, se consideraron como detecciones correctas todos los píxeles pertenecientes a una lesión correctamente detectada. Puesto que el número de verdaderos negativos detectados es mucho mayor que el número de falsos positivos, siempre se obtienen valores elevados de especificidad (ES_p) aunque la detección sea poco precisa. Por esta razón, la ES_p y, por tanto, la precisión (PR_p) no son medidas informativas [14]. En su lugar se calcularon el valor predictivo positivo (VPP_p) y la sensibilidad (SE_p). Por otro lado, con un criterio orientado a imagen, se consideró que una imagen correspondía a una retina sana si en ella se detectaron como lesión menos de 10 píxeles (0.000017% de todos los píxeles de la imagen) [2]. En caso contrario, la imagen se consideró como patológica. Según este criterio se calculó la precisión (PR_i), la sensibilidad (SE_i) y la especificidad (ES_i). Los resultados sobre el conjunto de test se recogen en la Tabla 1.

6. Discusión y conclusiones

En este trabajo se ha propuesto un método para la detección de LR en imágenes de fondo de ojo basado en la técnica *DeltaE* y en el espacio de color CIELAB para la

Criterio basado en píxel		Criterio basado en imagen		
SE_p	VPP_p	SE_i	ES_i	PR_i
79.2%	76.3%	85.5%	76.3%	81.8%

Tabla 1. Resultados sobre el conjunto de test

segmentación de LR. Hasta donde tenemos conocimiento, esta técnica no ha sido empleada previamente en este contexto. El método se completa con una etapa de preprocesado y una etapa de clasificación de los candidatos segmentados.

El método se evaluó sobre un conjunto de 105 retinografías heterogéneas, distintas de las del conjunto de entrenamiento. La mitad de ellas presentaban al menos una LR. Tras la segmentación de los candidatos, se estudió un conjunto de 29 características representativas de las propiedades visuales de las LR. Sobre ellas se aplicó la técnica FCBF, obteniéndose como resultado un subconjunto con las 12 características más relevantes para la tarea de clasificación. Los resultados obtenidos se midieron empleando dos criterios diferentes. Con el criterio orientado a píxel se alcanzó una SE_p del 79.2% y un VPP_p del 76.3%. Con el criterio orientado a imagen se alcanzó una SE_i del 85.5%, una ES_i del 76.3% y una PR_i del 81.8%.

Estos resultados son similares a los de otros estudios para la detección de LR según el criterio orientado a imagen. En Seoud et ál. [3] se obtuvo una SE_i del 87.7% y una ES_i del 85.9%. En García et ál. [2], una SE_i del 100.0% y una ES_i del 60.0%, dando lugar a una PR_i del 80%. Y en Zhou et ál. [8] la SE_i fue del 83.3% y la ES_i del 97.3%. No obstante, los resultados de los diferentes estudios son difíciles de comparar entre sí debido a la heterogeneidad de las BBDD y de los criterios de evaluación empleados.

El algoritmo propuesto también tiene algunas limitaciones que es necesario mencionar. Al pretender segmentar al mismo tiempo LR de distintas formas y tamaños, es complicado detectar todas las lesiones sin obtener falsos positivos, tal y como muestran los resultados obtenidos. Asimismo, varias de nuestras imágenes presentan LR muy próximas a algún vaso sanguíneo, con lo que se suelen considerar como parte de la red vascular en la etapa de segmentación. Por otra parte, sería deseable ampliar la BD para que los resultados del estudio fuesen más generalizables. En trabajos futuros se pretende analizar un mayor número de imágenes, además de profundizar en el estudio del color y mejorar la segmentación procesando MAs y HEs por separado. Asimismo, se tratará de emplear la métrica *DeltaE* para mejorar la detección de la red vascular y para detectar otras lesiones asociadas a la RD.

Los resultados obtenidos permiten concluir que el método propuesto es útil para la detección automática de LR en retinografías. En particular, la diferencia de color sobre el espacio CIELAB o técnica *DeltaE*, en combinación con una etapa de preprocesado y una etapa de clasificación, permite discriminar adecuadamente las LR del fondo retiniano. Esto permitiría reducir la carga de trabajo de los oftalmólogos y mejorar la atención de los pacientes.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el ‘Ministerio de Economía y Competitividad’ y el ‘Fondo Europeo de Desarrollo Regional’ (FEDER) bajo los proyectos RTC-2015-3467-1 y TEC2014-53196-R, por la ‘Comisión Europea’ y el FEDER bajo el proyecto ‘Análisis y

correlación entre el genoma completo y la actividad cerebral para la ayuda al diagnóstico de la enfermedad del Alzheimer’ (Programa de cooperación Interreg V-A Spain-Portugal POCTEP 2014-2020’) y por la ‘Consejería de Educación de la Junta de Castilla y León’ y FEDER bajo el proyecto VA037U16.

Referencias

- [1] Mookiah MRC, Acharya UR, Chua CK, Lim CM, Ng EYK, Laude A. Computer-aided diagnosis of diabetic retinopathy: A review. *Computers in Biology and Medicine*, vol. 43, no. 12, 2013, pp 2136–2155.
- [2] García M, Sánchez CI, López MI, Hornero R. Automatic Detection of Red Lesions in Retinal Images Using a Multilayer Perceptron Neural Network. *30ª Conferencia Internacional IMBS IEEE*, Vancouver, 2008, pp 5425–5428.
- [3] Seoud L, Hurtut T, Chelbi J, Cheriet F, Langlois JMP. Red Lesion Detection Using Dynamic Shape Features for Diabetic Retinopathy Screening. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 35, no. 4, 2016, pp 1116–1126.
- [4] Niemeijer M, Van Ginneken B, Staal J, Suttorp-Schulten MSA, Abràmoff MD. Automatic detection of red lesions in digital color fundus photographs. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 24, no. 5, 2005, pp 584–592.
- [5] Akram MU, Khalid S, Tariq A, Khan SA, Azam F. Detection and classification of retinal lesions for grading of diabetic retinopathy. *Computers in Biology and Medicine*, vol. 45, no. 1, 2014, pp 161–171.
- [6] Winder RJ, Morrow PJ, McRitchie IN, Bailie JR, Hart PM. Algorithms for digital image processing in diabetic retinopathy. *Computerized Medical Imaging and Graphics*, vol. 33, no. 8, 2009, pp 608–622.
- [7] Akram M, Khalid S, Khan SA. Identification and classification of microaneurysms for early detection of diabetic retinopathy. *Pattern Recognition*, vol. 46, no. 1, 2013, pp. 107–116.
- [8] Zhou W, Wu C, Chen D, Wang Z, Yi Y, Du W. Automated Detection of Red Lesions Using Superpixel Multichannel Multifeature. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, vol. 2017, 2017.
- [9] Valberg A. *Light Vision Color*, 1st ed. Wiley, 2005.
- [10] Romero R, García M, López MI, Manco F, Hornero R. Localización automática de la papila y la fovea en retinografías. *Congreso Anual de la Sociedad Española de Ingeniería Biomédica*, 2016, pp. 173–176.
- [11] Mendonça AM, Campilho A. Segmentation of Retinal Blood Vessels by Combining the Detection of Centerlines and Morphological Reconstruction. *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 25, no. 9, 2006, pp. 1200–1213.
- [12] Bishop C. *Neural Networks for Pattern Recognition*, 1st ed. New York: Oxford University Press, 1995.
- [13] Yu L, Liu H. Efficient Feature Selection via Analysis of Relevance and Redundancy. *Journal of Machine Learning Research*, vol. 5, 2004, pp 1205–1224.
- [14] Osareh A. Automated identification of Diabetic Retinal Exudates and the Optic Disc. PhD thesis, Universidad de Bristol, 2004.

Corrección del efecto de endurecimiento basado en una linealización 2D

C. Martínez^{1,2}, N. Ballesteros^{1,2}, C. de Molina^{1,2}, M. Desco^{1,2,3,4}, M. Abella^{1,2,3}

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

² Instituto de Investigación Sanitaria Gregorio Marañón, Madrid, España, {cmartinez, nballesteros, cmolina, desco, mabella}@hggm.es

³ Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC), Madrid, España

⁴ Centro de investigación en red en salud mental (CIBERSAM), Madrid, España

Resumen

El endurecimiento de haz en los rayos X es el fenómeno mediante el cual la energía media de un haz se incrementa a medida que atraviesa un material. Este efecto provoca dos tipos de artefacto en las imágenes generadas a través de tomografía computarizada: cupping, en muestras homogéneas, y bandas, entre zonas densas de muestras heterogéneas.

En este trabajo se propone un método sencillo para la corrección de ambos tipos de artefacto extendiendo la idea del método clásico de linealización a 2D. Se basa en la caracterización del efecto del endurecimiento de haz a partir de la calibración con un maniquí sencillo formado por dos materiales que simulan hueso y tejido blando.

La evaluación en simulaciones y datos reales muestra una corrección del 99% de los artefactos producidos en el tejido blando, tanto cupping como bandas.

1. Introducción

El origen del endurecimiento de haz en tomografía computarizada reside en la naturaleza policromática de la fuente de rayos X. Se define como el proceso por el cual la energía media del haz de rayos X aumenta al atravesar un material debido a que los fotones menos energéticos son absorbidos con mayor facilidad que los de energía superior. El endurecimiento de haz produce, principalmente, dos tipos de artefacto en la imagen reconstruida: *cupping* en regiones homogéneas y bandas entre zonas densas de regiones heterogéneas [1].

En la literatura se pueden encontrar múltiples esquemas de corrección. El más sencillo consiste en pre-endurecer el rayo a través de un filtrado físico para descartar la mayoría de fotones de baja energía que expulsa la fuente [1], sin embargo, es insuficiente para eliminar completamente los artefactos. El método más implementado en los escáneres comerciales es la linealización, en el que se asume que el objeto es homogéneo para conseguir una corrección del artefacto de *cupping* pero no consigue eliminar las bandas [2].

Para la corrección de ambos artefactos, en [3] la estimación de tejido blando y hueso atravesado junto con el conocimiento del espectro son utilizados para la corrección. Posteriormente, en [4] se elimina la necesidad de conocer el espectro de la fuente, corrigiendo los datos de proyección con un modelo no lineal de dos parámetros,

en el que es necesario una reconstrucción preliminar para estimar la cantidad de hueso atravesado. La principal dificultad de este método reside en el cálculo de los parámetros óptimos para cada volumen. Como el valor óptimo de los parámetros varía según el tamaño y composición del hueso no es posible su optimización para todos los cortes de un volumen.

En [5] se propone un algoritmo en el que se extiende el modelo anterior, buscando los parámetros de forma iterativa por medio de la maximización de la uniformidad en el tejido blando de la imagen. Para eliminar el paso de segmentación, en [6] se desarrolla el mismo algoritmo basándose en la combinación lineal de las imágenes pero extraídas a partir de una transformación del histograma. Ambos métodos están basados en la suposición de que el objeto está compuesto por zonas homogéneas, lo que puede resultar en una reducción de contraste en el tejido blando.

Recientemente presentamos un nuevo método para la corrección tanto de bandas como de *cupping* extendiendo la idea de linealización a 2D. La calibración se basaba en un maniquí compuesto de tejido blando y hueso. Debido a la imposibilidad de realizar maniqués con hueso y tejido blando real, en este trabajo se da un paso más hacia la utilización real del método proponiendo un maniquí de materiales equivalentes: PMMA para el tejido blando y una aleación de aluminio para el hueso.

2. Método propuesto

La ley de Beer-Lambert modela la relación entre la intensidad incidente y transmitida a través de un material a través de la expresión:

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

donde I_0 es la intensidad incidente, L es el espesor atravesado por el rayo y μ el coeficiente de atenuación del material atravesado, siendo $\mu = mac \rho$ donde mac es el coeficiente de atenuación de masa y ρ la densidad del material. Usando esta relación es posible despejar el mapa de atenuación μL :

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

donde F_{IDEAL} es la recta que representa la dependencia de la atenuación con el espesor atravesado.

Sin embargo, el espectro de rayos X es policromático y la atenuación a los rayos X no es igual para todas las energías, siendo necesario reescribir las ecuaciones (1) y (2) para representar esta dependencia con la energía:

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

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

donde F_{EH} es lo que denominaremos función de endurecimiento de haz.

Las ecuaciones anteriores son válidas para el caso en el que el haz de rayos X solo atraviesa un material. El método de linealización se basa en asumir que la muestra está formada solo por un tejido y crear una función cuadrática que sustituya los valores de F_{IDEAL} por los de F_{EH} asumiendo que todo el objeto está compuesto de tejido blando (TB) y corrigiendo solo *cupping*. Para la corrección de los dos artefactos, *cupping* y bandas, es necesario añadir el hueso (H) en la función, reescribiendo las ecuaciones (2) y (4) como:

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

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

Calibración

La calibración se basa en la obtención de las funciones F_{EH} y F_{IDEAL} para adquirir los parámetros de corrección. La figura 1 muestra el flujo de trabajo del que se compone este paso.

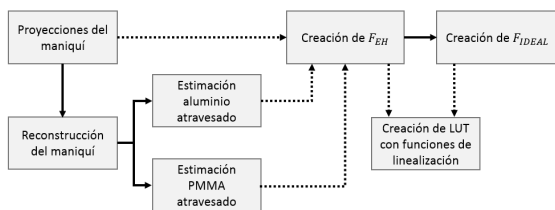


Figura 1. Flujo de trabajo de la calibración

Puesto que no es posible usar tejido blando y hueso real, la caracterización empírica de la F_{EH} se basa en la utilización de un maniquí de calibración con materiales equivalentes. Para el tejido blando se utiliza PMMA, ampliamente aceptado en la literatura. Sin embargo, en el caso del hueso se han propuesto diferentes materiales (teflón, aluminio, diferentes concentraciones de calcio o iopamiro con agua), sin que haya acuerdo en la literatura. Teniendo en cuenta que la *mac* del teflón es muy diferente a la del hueso, especialmente para espesores altos, y que los líquidos (calcio o iopamiro) suponen dificultades de manejo, se propone el uso de aluminio.

Para compensar pequeñas diferencias en densidad o *mac* de estos materiales con respecto al tejido blando y al hueso, aplicamos un factor de normalización (FN) basado en aproximaciones de ambas funciones de endurecimiento de haz:

$$F_{EH}(t_H, t_{TB}, \varepsilon) = F_{EH}(t_{Al}, t_{PMMA}, \varepsilon) \times FN \quad (7)$$

$$FN = \frac{F_{EH}(L_H, L_{TB}, \varepsilon)}{F_{EH}(L_{Al}, L_{PMMA}, \varepsilon)} \approx \frac{F_{EH}(L_H, L_{TB}, \varepsilon_{eff})}{F_{EH}(L_{Al}, L_{PMMA}, \varepsilon_{eff})} \quad (8)$$

$$FN \approx \frac{mac_H(\varepsilon_{eff})\rho_H L_H + mac_{TB}(\varepsilon_{eff})\rho_{TB} L_{TB}}{mac_{Al}(\varepsilon_{eff})\rho_{Al} L_{Al} + mac_{PMMA}(\varepsilon_{eff})\rho_{PMMA} L_{PMMA}}$$

El cálculo de $mac_H(\varepsilon_{eff})$ y $mac_{TB}(\varepsilon_{eff})$ se hace a partir de la capa hemirreductora (HVL):

$$HVL = \frac{\ln(2)}{\mu_{eff}} = \frac{\ln(2)}{mac_{eff} \times \rho} \rightarrow mac_{eff} = \frac{\ln(2)}{\rho \times HVL} \quad (9)$$

donde HVL se obtiene:

$$HVL_{Al} = \{L_{Al} / \exp(-F_{EH}(L_{Al}, 0)) = 0.5\} \quad (10)$$

$$HVL_{PMMA} = \{L_{PMMA} / \exp(-F_{EH}(0, L_{PMMA})) = 0.5\}$$

Finalmente, usamos la ecuación (9) para obtener las *macs* efectivas correspondientes a cada material y a partir de ésta la energía efectiva para cada material usando la base de datos del NIST. Estas mismas energías son utilizadas en sentido contrario para obtener las *macs* del hueso y el tejido blando.

La función $F_{EH}(L_{Al}, L_{PMMA})$ se construye utilizando la correspondencia de los espesores atravesados de aluminio y PMMA, como ejes x e y, y el valor de las proyecciones originales, como eje z. La cantidad de material atravesado se obtiene a partir de una reconstrucción, una segmentación de ambos materiales y una proyección para cada material. La función ideal F_{IDEAL} viene determinada por el plano tangente a los primeros datos de F_{EH} , por lo que usamos las derivadas parciales de la función para cada tejido en el punto (0,0) para obtener las pendientes del mismo.

La función de corrección es aquella que relaciona estas dos funciones 2D, pero F_{EH} no es inyectiva y no es posible obtener un valor único de corrección. Para solucionarlo se elimina la variable correspondiente al hueso de la función F_{EH} utilizando la estimación de hueso atravesado. La corrección será una *look-up table* (LUT) en la que para cada espesor de hueso atravesado se almacena una función cuadrática de linealización.

Corrección

La corrección aplica la función correspondiente a cada pixel de la proyección en función de la cantidad de hueso atravesada tal y como muestra el flujo de trabajo en la Figura 2. Para calcular el hueso atravesado se realiza una reconstrucción preliminar sobre la que se segmenta el hueso y se proyecta, estimando la cantidad de hueso atravesada en cada pixel de la proyección.

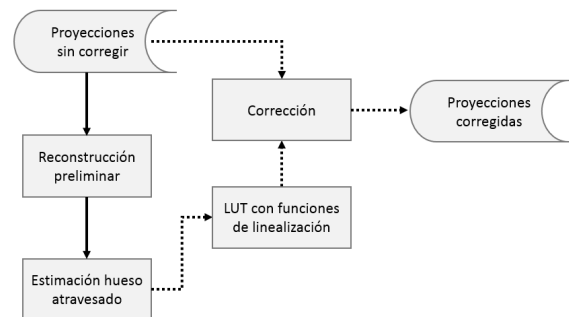


Figura 2. Flujo de trabajo de la corrección

3. Evaluación en datos simulados

Se ha realizado una evaluación en simulación basada en el sistema *cone beam* de pequeño animal ARGUS PET/CT (SEDECAL)[7] y un espectro de 40 kVp con un 1 mm de filtrado de aluminio obtenido a través del modelo TASMIP [8]. La muestra fue un atlas 3D de ratón [9] caracterizado por cuatro densidades diferentes: pulmones, tejido blando, corazón y hueso cortical. Los coeficientes de atenuación (*macs*) de cada material han sido extraídos de la base de datos del NIST. Usando $\rho_{TB}=1.06 \text{ gr/cm}^3$, $\rho_{AI}=2.71 \text{ gr/cm}^3$ y $\rho_{PMMA}=1.18 \text{ gr/cm}^3$ de la base de datos del NIST (www.nist.gov/pml/x-ray-mass-attenuation-coefficients) y $\rho_H=2.06 \text{ gr/cm}^3$ en ratas [10]. Los datos de proyección se generaron con *FUX-Sim* [11], obteniendo 720 proyecciones de 512x512 pixeles (0.2 mm^2 de tamaño de pixel) con un *span* de 360 grados. En la evaluación de los datos simulados se utilizan dos cortes axiales del *digimouse* (Figura 3) en los que se observan ambos artefactos: *cupping* y bandas. La evaluación cuantitativa se basa en los perfiles descritos en la Figura 4 y en el error cuadrático medio (ECM) con respecto a una reconstrucción monocromática equivalente al espectro policromático. Los perfiles tratan de evaluar de manera individual la corrección de bandas (1), el *cupping* (2) y la restauración de valores de hueso (3). El porcentaje de mejora se calcula mediante la siguiente expresión:

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

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

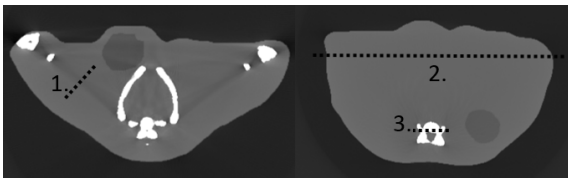


Figura 3. Perfiles a evaluar en datos simulados

Los perfiles de la Figura 3 muestran como los valores de tejido blando son restaurados completamente, con porcentaje de mejora de 99.9 % en el tejido blando y 86.7 % en hueso.

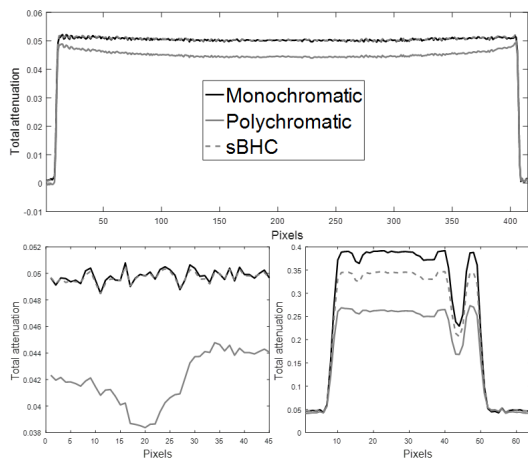


Figura 4. Perfiles en *cupping* (arriba), bandas (abajo-izquierda) y hueso (abajo-derecha)

La figura 5 muestra un corte axial de la imagen policromática del *digimouse* antes y después de la corrección en la que se puede observar la eliminación de las bandas entre los huesos.

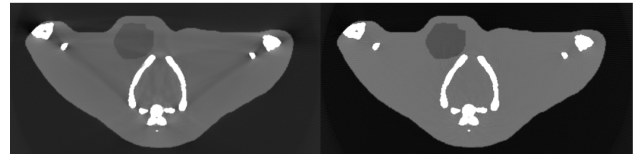


Figura 5. Corte axial antes (izquierda) y después de la corrección (derecha)

4. Evaluación en sistema real

Se ha realizado también una evaluación usando datos reales adquiridos con el escáner ARGUS PET/CT: dos estudios de ratas, uno de cabeza y otro de tórax. Todos los datos fueron adquiridos con 360 proyecciones (0.2 mm^2 de tamaño de pixel) y a un voltaje de 40kVp.

Dado que el aluminio en estado puro no es mecanizable y es necesario recurrir a aleaciones. Ateniéndonos a la *mac* del hueso y un mecanizado sencillo, se ha optado por la aleación 6082 para el material equivalente a hueso. Así, el maniquí de calibración se compone de un semicilindro de PMMA y un triángulo de aluminio 6082 (Figura 6) de forma que se maximicen las combinaciones de espesores atravesados para cada material.

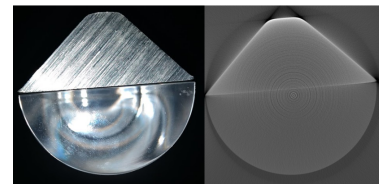


Figura 6. Maniquí de calibración

La evaluación en datos reales se basa en la evaluación visual debido a que no es posible disponer de datos obtenidos con una fuente monocromática. La figura 7 muestra cortes axiales antes y después de la corrección, en la que se observa una reducción significativa de los artefactos de bandas.

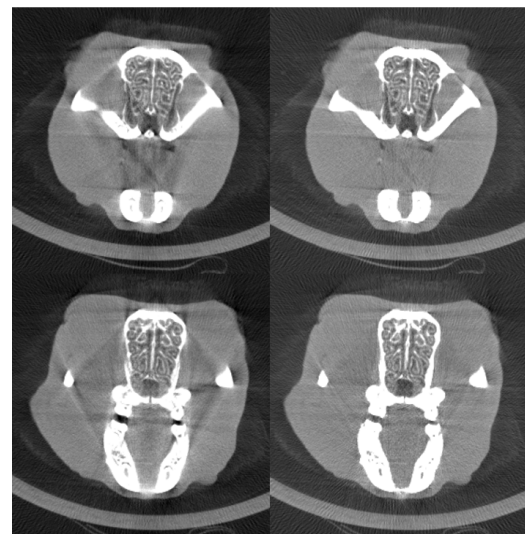


Figura 7. Cortes axiales sin corregir (izquierda) y corregidas (derecha)

5. Discusión

En este trabajo se propone un método para la corrección de los artefactos producidos por el efecto de endurecimiento de haz en tomografía computarizada. El método está basado en la extensión del algoritmo de linealización a 2D. Un paso de calibración con un maniquí sencillo formado por materiales equivalentes al tejido blando y hueso permite corregir tanto *cupping* como bandas.

A través de la literatura se han elegido el PMMA y una aleación de aluminio para sustituir al tejido blando y el hueso respectivamente. En el caso del PMMA la *mac* no es exactamente igual pero la densidad es muy parecida: En el de la aleación de aluminio 6082 se da el problema contrario con una *mac* muy parecida pero una densidad mucho mayor. Las diferencias en el factor de atenuación se compensan usando un factor de normalización ajustando la función a la correspondiente de hueso y tejido blando. Sin embargo, la corrección a través de este factor no es del todo precisa debido a que el factor de normalización está basado en dos aproximaciones de la función de endurecimiento de haz. Aunque se consigue una corrección de las bandas, los valores de hueso no son restaurados a sus valores ideales. Como trabajo futuro es necesario afinar este factor de normalización para mejorar la corrección de estos valores de hueso a través de mejorar la aproximación de las funciones de endurecimiento de haz.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad (proyectos DPI2016-79075-R) y el Instituto de Salud Carlos III (proyecto DTS17/00122).

Referencias

- [1] J. F. Barrett and N. Keat, "Artifacts in CT: recognition and avoidance," *Radiographics*, vol. 24, pp. 1679-91, Nov-Dec 2004.
- [2] R. A. Brooks and G. Di Chiro, "Beam hardening in x-ray reconstructive tomography," *Phys Med Biol*, vol. 21, pp. 390-8, May 1976.
- [3] O. Nalcioglu and R. Lou, "Post-reconstruction method for beam hardening in computerised tomography," *Physics in medicine and biology*, vol. 24, p. 330, 1979.
- [4] P. M. Joseph and R. D. Spital, "A method for correcting bone induced artifacts in computed tomography scanners," *J Comput Assist Tomogr*, vol. 2, pp. 100-8, Jan 1978.
- [5] Y. Kyriakou, E. Meyer, D. Prell, and M. Kachelriess, "Empirical beam hardening correction (EBHC) for CT," *Med Phys*, vol. 37, pp. 5179-87, Oct 2010.
- [6] S. Schuller, S. Sawall, K. Stannigel, M. Hulsbusch, J. Ulrici, E. Hell, *et al.*, "Segmentation-free empirical beam hardening correction for CT," *Med Phys*, vol. 42, pp. 794-803, Feb 2015.
- [7] J. J. Vaquero, S. Redondo, E. Lage, M. Abella, A. Sisniega, G. Tapias, *et al.*, "Assessment of a new high-performance small-animal x-ray tomograph," *IEEE Transactions on Nuclear Science*, vol. 55, pp. 898-905, 2008.
- [8] J. Siewerdsen, A. Waese, D. Moseley, S. Richard, and D. Jaffray, "Spektr: A computational tool for x-ray spectral analysis and imaging system optimization," *Medical physics*, vol. 31, pp. 3057-3067, 2004.
- [9] B. Dogdas, D. Stout, A. F. Chatzioannou, and R. M. Leahy, "Digimouse: a 3D whole body mouse atlas from CT and cryosection data," *Physics in medicine and biology*, vol. 52, p. 577, 2007.
- [10] E. Cory, A. Nazarian, V. Entezari, V. Vartanians, R. Müller, and B. D. Snyder, "Compressive axial mechanical properties of rat bone as functions of bone volume fraction, apparent density and micro-ct based mineral density," *Journal of biomechanics*, vol. 43, pp. 953-960, 2010.
- [11] M. Abella, E. Serrano, J. Garcia- Blas, I. García, C. de Molina, J. Carretero, *et al.*, "FUX-Sim: Implementation of a fast universal simulation/reconstruction framework for X-ray systems," *PLOS ONE*, vol. 12, p. e0180363, 2017.

Sesión Pósters 3

Viernes, 1 de Diciembre

Entorno didáctico de bajo coste para formación en tecnologías de cirugía guiada por imagen y robótica

B. Rodríguez-Vila^{1,2}, A. Gutiérrez³, M. Peral-Boiza^{2,3}, H. Ying¹, T. Gómez-Fernández^{2,3}, E.J. Gómez^{1,2,4}, P. Sánchez-González^{1,2,4}

¹ Grupo de Bioingeniería y Telemedicina. ETSI de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España, {brvila, egomez, psanchez}@gbt.tfo.upm.es

² Centro de Tecnología Biomédica, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España.

³ E.T.S. Ingenieros de Telecomunicación, Universidad Politécnica de Madrid, España, aguti@etsit.upm.es

⁴ Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, Madrid, España.

Resumen

Este trabajo de investigación presenta un nuevo entorno didáctico de bajo coste para la formación ingenieril de temáticas de cirugía guiada por imagen y robótica. Con este entorno se pretende mejorar la motivación y autonomía del alumnado, que hasta el momento se hallaba acotada debido al alto componente teórico de las sesiones impartidas. El entorno está formado por un phantom, una herramienta software, un sistema robótico y un manipulador que permite obtener una realimentación háptica. Se ha llevado a cabo una experiencia piloto en la asignatura de cuarto curso "Simulación y planificación quirúrgica" del Grado de Ingeniería Biomédica de la Universidad Politécnica de Madrid. Los resultados de las encuestas llevadas a cabo muestran que la nueva metodología mejora en todos los casos los valores obtenidos usando la metodología clásica basada en la clase magistral y prácticas.

1. Motivación

La cirugía guiada por imagen (CGI) es el término genérico usado para cualquier procedimiento donde el cirujano usa instrumental quirúrgico localizado espacialmente, junto con imágenes médicas, preoperatorias o intraoperatorias, y/o modelos virtuales generados a partir de ellas para guiar el procedimiento quirúrgico. Los sistemas de cirugía guiada por imagen usan sistemas de posicionamiento mecánico, óptico, acústico y/o electromagnético para capturar la anatomía del paciente y relacionar los movimientos del cirujano con ésta, permitiendo la visualización en pantallas dentro del quirófano.

La cirugía robótica o cirugía asistida robóticamente (CAR) son términos usados para referirse a desarrollos tecnológicos que usan sistemas robóticos para asistir en procedimientos quirúrgicos. En este caso, en vez de mover directamente el instrumental quirúrgico, el cirujano usa un tele-manipulador para controlar los instrumentos de forma remota.

Hasta el momento, las asignaturas relacionadas con CGI y CAR impartidas en los grados y másteres de ingeniería biomédica de la Universidad Politécnica de Madrid (UPM) tienen un enfoque mayoritariamente teórico. De esta manera, los alumnos no adquieren conocimientos prácticos a través de la utilización de los conceptos teóricos en el desarrollo de aplicaciones reales. Así, las metodologías que se suelen aplicar constan de unas sesiones en las que se

presentan los conocimientos teóricos que se desea que adquiera el alumno, y en el mejor de los casos, unas sesiones prácticas guiadas en las que el alumno puede observar el resultado de aplicar esos conocimientos teóricos a un caso concreto.

Con este entorno de formación piloto, se pretende mejorar la motivación del alumnado, así como su autonomía, involucrándolo directamente en su formación mediante el uso de una metodología didáctica que parte de la idea del aprendizaje experimental, en el que el alumno aprende haciendo. El principal problema para el uso extensivo de metodologías pedagógicas más activas en la docencia de CGI y CAR radica en que estos sistemas, comerciales o en investigación, usan tecnologías excesivamente caras. Sin embargo, los conceptos básicos que subyacen pueden ser replicados en versiones simplificadas, sin tener que tener un objetivo clínico real ni por lo tanto restricciones de precisión y/o seguridad.

2. Estado del arte

Actualmente existen en la literatura artículos sobre sistemas, herramientas y tecnologías disponibles para la simulación en cirugía, ya sea de desarrollo de un sistema propio [1]-[5] o de revisión del estado de arte de las diferentes tecnologías implicadas en la simulación [6][7].

En [1] los autores desarrollaron una serie de tareas y herramientas con un planteamiento costo-eficaz para la educación en sistemas de navegación guiado por imagen usando Image-Guided Surgery Toolkit (IGSTK) [8], en la que se pretende que los alumnos desarrollen un entendimiento de las tecnologías claves de dichos sistemas tales como imágenes médicas, visualización de datos, segmentación, registro, sistemas de rastreo, interacción hombre máquina, etc. Una de las tareas propuestas consiste en construir un phantom de imagen médica mediante piezas de LEGO, en el que se rellena el interior de arroz de forma que no es posible ver las estructuras internas. Se pretende que el alumno tenga una experiencia en primera persona de registro de imágenes biomédicas y del guiado por imagen en una biopsia simulada. Otra herramienta desarrollada fue un sistema de rastreo mediante la cámara de un ordenador portátil y trazadores ópticos. Con dicha herramienta se pretende que el alumno aprenda los

conceptos claves de un sistema de rastreo, los trazadores y sus calibraciones.

Aunque las tareas desarrolladas pueden lograr transmitir al estudiante los fundamentos claves de las tecnologías tratadas, la dificultad de entender un sistema de simulación en cirugía radica en la integración de todas las tecnologías implicadas en un sistema único, y el alumno puede no llegar a apreciar la complejidad del proceso de desarrollo si estudia cada una de éstas por separadas. Además, no llega a explicar los fundamentos de otras tecnologías implicadas en una simulación quirúrgica como la cirugía robótica o la realimentación háptica.

En [2][4] los autores crearon un proceso de simulación basado en ordenador que permite al cirujano experto a crear entornos operativos personalizados, Toolkit for Illustration of Procedure in Surgery (3DTIPS). En dicho sistema se hace uso de tecnologías hápticas y de gráficos 3D para permitir al cirujano ilustrar los conceptos claves de un procedimiento quirúrgico, además de incluir información en formato de texto e imagen. El sistema también permite al cirujano personalizar los órganos y los tejidos que aparecerían en el entorno quirúrgico virtual de forma que puede satisfacer la necesidad formativa de los alumnos de explorar las diversas situaciones que pueden ocurrir en el entorno quirúrgico real. Una vez que se documenta un procedimiento quirúrgico, los alumnos son guiados por el dispositivo háptico siguiendo los movimientos grabados y las instrucciones del cirujano experto durante las lecciones. Este sistema está orientado a la formación de cirujanos y estudiantes de medicina, pero no tiene contenido educativo para la formación ingenieril.

3. Diseño del entorno de formación

Los entornos software reales de simulación en cirugía son demasiados complejos y tienen un coste demasiado elevado para que puedan ser usados en la formación de alumnos de ingeniería biomédica. Por ello, este trabajo ha propuesto el desarrollo de un entorno de simulación quirúrgica simplificado, de uso no clínico, que permita el movimiento de una única herramienta en un grado de libertad (inserción/extracción). El entorno pedagógico completo consta de 3 componentes:

- Un phantom físico, del que se obtiene las imágenes médicas CT y sirve como base para crear los modelos virtuales 3D. Con esto se pretende que los alumnos entiendan el papel fundamental que desempeñan las imágenes médicas, así como su procesamiento y análisis, en la planificación y navegación en cirugía de mínima invasión guiada por imagen.
- Una herramienta software de realidad virtual donde se introducen los modelos virtuales, incluyendo los órganos de interés y las herramientas para la interacción. Se pretende que los alumnos lleguen a apreciar los fundamentos y los conceptos claves de una simulación. Además, se pretende que los alumnos experimenten el caso de una simulación compleja con realimentación háptica.
- Un componente robótico que permite a los alumnos relacionar los eventos que ocurren en el mundo virtual

en la herramienta software y la realidad física, de forma que capten las ideas claves de una cirugía robótica.

3.1. Phantom

Simula el papel del cuerpo del paciente en una operación de cirugía de mínima invasión real y sirve como base para la creación del modelo virtual que se incorpora al entorno pedagógico. El material con el que se fabrica debe ser adecuado para la modalidad de imagen médica seleccionada, en nuestro caso, el CT. Además, el phantom: (1) debe disponer de unos orificios por donde se introduzca el instrumental y permitir la interacción; (2) en su interior debe haber estructuras con diferentes propiedades mecánicas para simular los diferentes órganos del cuerpo humano; (3) debe estar lleno de un medio viscoso que simule el tejido y el líquido intersticial; (4) puede presentar una geometría sencilla, dado que el objetivo no es conseguir un modelo realista del cuerpo humano, sino conseguir transmitir los conceptos básicos de una simulación a los alumnos de ingeniería.

3.2. Herramientas software

Dadas las necesidades del entorno pedagógico que se pretende construir, la herramienta software seleccionada debe cumplir diversas características para cubrir las necesidades del sistema: (1) carga y visualización de imágenes médicas; (2) procesamiento de imagen, más específicamente la segmentación; (3) creación y visualización de modelos virtuales; (4) interacción del usuario con los modelos; (5) detección de colisiones en la interacción entre modelos virtuales; (6) realimentación háptica.

3.3. Sistema robótico

El sistema robótico que se plantea para el entorno pedagógico es un robot con un único grado de libertad que permita la inserción/extracción de una herramienta cilíndrica a través de alguno de los orificios del phantom. El sistema robótico funcionará al mismo tiempo como sistema de posicionamiento mecánico basado en la posición del motor que controle el único grado de libertad.

3.4. Manipulador y realimentación háptica

La interacción del usuario con la herramienta asociada al sistema robótico debe realizarse a través de un dispositivo háptico que tenga al menos un grado de libertad. Este dispositivo debe ser compatible con el sistema de realidad virtual que será el que transmita la información sobre fuerzas.

4. Resultados y discusión

El phantom está formado por un cubo rectangular ensamblado obtenido mediante impresión 3D usando PLA. Las dimensiones son 140 x 210 x 140 mm. Además, en el interior del phantom, se dispone de muescas circulares de 10 mm de diámetro dispuestas de manera regular cada 30 mm, donde se encajan los objetos que se insertan en el interior de la caja. Como objetos, se cuenta con diferentes materiales (PLA, corcho, madera y poliexpan) y formas

geométricas (cubo, esfera, cilindro) visibles a la imagen de CT con diferentes intensidades (Figura 1, izq.).

Existen multitud de herramientas software que cubren las necesidades de visualización y procesamiento de imagen médica, incluyendo habitualmente la creación y visualización de modelos virtuales. Algunas de ellas permiten una interacción del usuario más allá de un simple cambio de perspectiva en la visualización de los objetos. Sin embargo, los autores no han encontrado ninguna herramienta software que incluya las características anteriores y añadan los detección de colisiones y la realimentación háptica.

Por esta razón se han seleccionado dos herramientas independientes, una asociada a la visualización y procesamiento de imágenes médicas y otra asociada a la simulación de realidad virtual.

La primera herramienta permite la obtención de modelos virtuales a partir de imágenes DICOM, y guardar esos modelos en formato STL (*stereolithography*). En el caso concreto del piloto desarrollado se propuso el uso de 3D Slicer [9] o ITK-Snap [10].

La simulación de realidad virtual se desarrolla usando Chai3D [11], un entorno de programación open-source y multiplataforma diseñado para integrar sensación táctil, visualización y simulación interactiva en tiempo real. Este entorno, desarrollado en C++, permite al estudiante entender los conceptos básicos relativos a visualización (uso de cámaras, luces, texturas, etc.), simulación y gestión de colisiones, realimentación háptica e interacción (mediante teclado, ratón o dispositivos hápticos) y desarrollar de manera intuitiva sus propias aplicaciones.

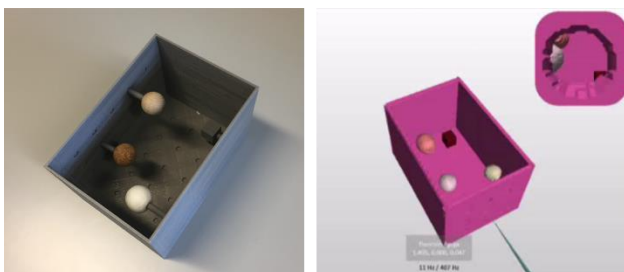


Figura 1. (izq.) Phantom físico y (der.) ejemplo de visualización de los modelos virtuales usando dos cámaras desarrollo por estudiantes.

El sistema robótico, de 1 grado de libertad, está formado por un motor que mueve una aguja a lo largo de un único eje. El motor está controlado por un microcontrolador Arduino conectado al entorno de simulación. De esta manera, el movimiento del dispositivo háptico se traduce en una inserción/extracción de la aguja.

La base del robot se encuentra fija en el entorno de trabajo, mientras que el phantom puede moverse manualmente para que la aguja se inserte por uno de los nueve puntos de acceso (Figura 2).

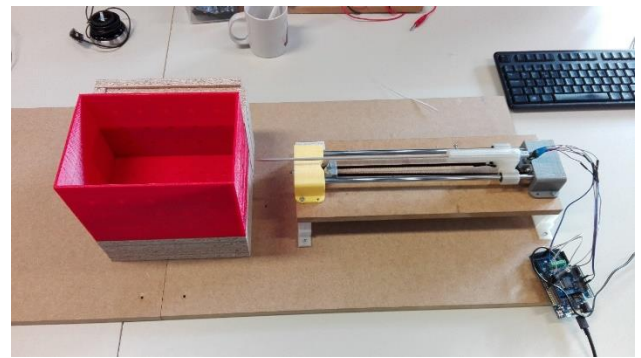


Figura 2. Sistema robótico integrado en el entorno didáctico

Como dispositivo de realimentación háptica para la integración de todo el sistema se ha seleccionado un sistema comercial de bajo coste orientado al mundo de los videojuegos, Novint Falcon (Novint Technologies, Inc.) (Figura 3). Novint Falcon es compatible con Chai3D y su integración con éste no requiere ningún desarrollo añadido. Este dispositivo tiene tres grados de libertad por lo que se ha modificado el controlador de Chai3D asociado para que únicamente se transmitan los movimientos en el eje de inserción.



Figura 3. Novint Falcon, en primer plano, con el sistema robótico y el phantom en segundo plano.

El entorno pedagógico diseñado y desarrollado permite adaptar la dificultad de los contenidos a distintos niveles de los estudiantes. La prueba piloto de este entorno se ha probado en una asignatura de 4 ECTS que se imparte en el 4º año del Grado en Ingeniería Biomédica de la UPM. La asignatura se ha diseñado siguiendo el concepto de aprendizaje basado en proyectos, donde los alumnos han trabajado en grupos pequeños (de cuatro componentes) a lo largo de un semestre en la realización de su propio simulador.

En este caso, los estudiantes recibieron inicialmente la imagen DICOM del phantom con una distribución desconocida de los elementos internos. Ellos fueron los responsables de crear los modelos 3D y exportarlos a su propia aplicación realizada en Chai3D. Posteriormente se les asignó un Novint Falcon a cada grupo y un sistema robótico que no respondía al movimiento del dispositivo háptico. Los alumnos tuvieron que relacionar el movimiento del háptico con el comportamiento del motor y realizar el registro entre el mundo virtual y el mundo real. Todos los grupos fueron capaces de entregar una aplicación

de simulación funcional propia y diferente que integraba todos los componentes necesarios.

En la Tabla 1 se muestran los valores promedio de los profesores en algunas de las preguntas de la encuesta sobre la actividad docente del profesorado (DOCENTIA-UPM). En general, los valores obtenidos por la nueva metodología mejoran en todos los casos a los valores obtenidos usando la metodología clásica basada en la clase magistral y prácticas. Esta mejora se incrementa significativamente si comparamos la primera edición en la que se aplicó cada una de las metodologías.

Tabla 1. Valores de la encuesta a estudiantes DOCENTIA-UPM en los años analizados

Pregunta	Metodología clásica		ABP
	Primera edición	Última edición	Primera edición
Las tareas previstas guardan relación con lo que se pretende que aprenda en la actividad docente.	3.36	3.36	4.23
El modo en que se evalúa guarda relación con el tipo de tareas desarrolladas.	2.95	3.60	4.20
He mejorado mi nivel de partida, con relación a las competencias previstas en el programa.	3.59	3.79	4.24
El profesor favorece la participación de los estudiantes en el desarrollo de la actividad docente.	3.45	3.68	4.16
En general estoy satisfecho con la labor docente del profesor	3.50	3.78	4.10

Como se puede observar, los alumnos valoran positivamente el cambio en la relación entre tareas y resultados de aprendizaje, la metodología de evaluación, las competencias adquiridas y la participación del alumno en el desarrollo de la asignatura. En la mayoría de los casos la diferencia se acerca o sobrepasa el medio punto en una escala 1-5.

5. Conclusiones

Las metodologías tradicionales basadas en clases magistrales y prácticas para la formación de ingenieros en conceptos de CGI y CAR se están reemplazando por otras que fomenten la motivación y autonomía de los alumnos. En este sentido, se ha desarrollado un entorno didáctico de bajo coste y se ha llevado a cabo una experiencia piloto en una asignatura del Grado en Ingeniería Biomédica de la

Universidad Politécnica de Madrid. Los resultados obtenidos han sido positivos y animan al profesorado a continuar trabajando en esta línea del aprendizaje experimental, en el que el alumno aprende haciendo.

Agradecimientos

Este trabajo está parcialmente financiado por el proyecto de innovación educativa EDUCIR de la Universidad Politécnica de Madrid.

Referencias

- [1] Güler Ö, Yaniv Z. Image-guided navigation: a cost effective practical introduction using the Image-Guided Surgery Toolkit (IGSTK). Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc. 2012;2012:6056-9. doi: 10.1109/EMBC.2012.6347375. [PubMed: 23367310]
- [2] Kim M, Ni T, Cendán JC, Kurenov S, Peters J. A Haptic-enabled toolkit for illustration of procedures in surgery (TIPS). Stud Health Technol Inform 2007;125:209. [PubMed: 17377268]
- [3] Yeo YI, Dindar S, Sarosi G, Peters J. Enabling surgeons to create simulation-based teaching modules. Stud Health Technol Inform. 2011;163:723-9. [PubMed: 2133588]
- [4] Cendan J, Kim M, Kurenov S, Peters J. Developing a multimedia environment for customized teaching of an adrenalectomy. Surg Endosc. 2007 Jun;21(6):1012-6. Epub 2006 Dec 16. [PubMed: 17180260]
- [5] Alexander Dawson-Elli, Michael Potter, Alexander Bensch, Cristian A. Linte, "An integrated "plug & play" 3D Slicer module for image-guided navigation for training simulation and guidance", Image and Signal Processing Workshop (WNYISPW) 2014 IEEE Western New York, pp. 23-26, 2014.
- [6] Khunger N, Kathuria S. Mastering Surgical Skills Through Simulation-Based Learning: Practice Makes One Perfect. Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery. 2016;9(1):27-31. doi:10.4103/0974-2077.178540.
- [7] G. S. Ruthenbeck and K. J. Reynolds, Virtual reality surgical simulator software development tools. Journal of Simulation. 7(2), 2013, pp. 101-108.
- [8] Página web del "Image-Guided Surgery Toolkit" <http://www.igstk.org/> (Consultada: Septiembre 2017).
- [9] Página web del programa "3D Slicer" <https://www.slicer.org/> (Consultada: Septiembre 2017).
- [10] Página web de "ITK Snap" <http://www.itksnap.org/> (Consultada: Septiembre 2017).
- [11] Página web del programa "Chai 3D" <http://www.chai3d.org/> (Consultada: Septiembre 2017).

Simulación software/hardware de modelos de generación de potenciales cardíacos con fines docentes

J. Roca González¹, J. Hurtado Avilés²

¹ EIMED-DINTEL “Electrónica Industrial y Médica” - Dpto. Tecnología Electrónica, Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena, España, jroca.gonzalez@upct.es

² Departamento de Cirugía, Pediatría, Obstetricia y Ginecología, Universidad de Murcia, Murcia, España

Resumen

Se presenta una unidad práctica para la simulación software/hardware de potenciales cardíacos; destinada a su uso docente en el entorno de la Ingeniería Biomédica para estudiantes del Grado de Ingeniería en Electrónica Industrial y Automática. Los modelos implementados, derivados del propuesto por Maeda, Yagi y Makino son primero simulados bajo TINA-TI y posteriormente caracterizados en una placa de circuito impreso (PCB) de diseño propio en el laboratorio. Esta placa de bajo coste permite el estudio de la sincronización de los osciladores cardíacos, así como la simulación del uso de marcapasos externos.

1. Introducción

La simulación de procesos fisiológicos tiene un gran interés para el desarrollo de nuevas técnicas diagnósticas, sistemas de control, y especialmente, para su uso docente. Al igual que sucede en el caso de la tecnología electrónica, la simulación de estos procesos puede ayudar a mejorar la asimilación de conceptos difíciles de visualizar en el aula y de replicar en el laboratorio [1].

El trabajo que se presenta recoge el desarrollo de una unidad de prácticas para la simulación mixta (software/hardware) basada en un modelo electrónico para la generación de potenciales cardíacos, que ha sido exitosamente integrada en el currículo de los estudiantes de la asignatura “Ingeniería Biomédica” en el Grado de Ingeniería en Electrónica Industrial y Automática de la Universidad Politécnica de Cartagena.

1.1. Modelos electrónicos para la simulación de potenciales celulares

El proceso de generación de biopotenciales ha sido modelado haciendo uso de la analogía con distintos circuitos eléctrico-electrónicos desde los trabajos iniciales de Hodgkin y Huxley [2]. Así, los modelos de FitzHugh-Nagumo, Hoshimiya et al. [3] y Maeda y Makino [4,5] emplean sencillos circuitos electrónicos para explicar los potenciales generados fruto del intercambio de especies iónicas a través de la membrana celular. Este último modelo fue modificado por Maeda, Yagi y Makino [5] para el estudio de los osciladores no-lineales acoplados de forma difusa, con el fin de estudiar la sincronización entre los distintos sistemas de células marcapasos cardíacas, dando lugar al circuito de la figura 1.

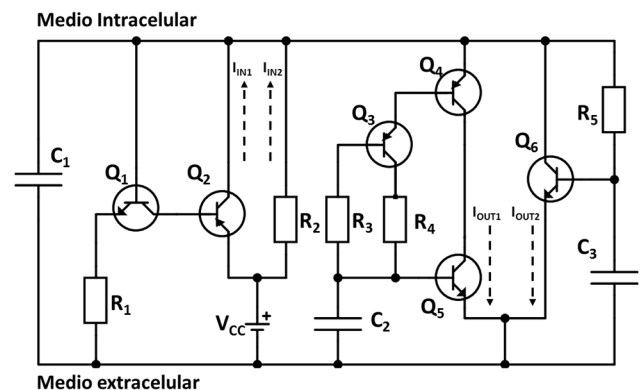


Figura 1. Modelo de Maeda, Yagi y Makino [5]

En la figura, I_{IN1} representa la corriente provocada por la entrada de los iones sodio a través de canales dependientes del potencial de la membrana, I_{IN2} la provocada por el paso del sodio a través de canales abiertos y que da lugar a la corriente marcapasos. Por otra parte I_{OUT1} representa a la corriente de salida provocada por el movimiento de los iones potasio, mientras que I_{OUT2} la corriente rectificadora retardada de potasio (IK) responsable de la repolarización de la membrana celular de las células musculares cardíacas.

Partiendo de este modelo, distintas variaciones han sido propuestas, siendo especialmente interesantes las del profesor Land en Cornell [6], y que han sido adaptadas a los fines de la práctica propuesta. Otras implementaciones más recientes proponen su integración en sistemas de simulación mixta analógico-digital [7].

2. Materiales y métodos

Para la implementación de práctica se ha seguido un esquema de simulación software mediante SPICE y hardware sobre una placa de circuito impreso expresamente diseñada y fabricada.

2.1. Simulación software de potenciales cardíacos

La simulación de los modelos considerados se lleva a cabo bajo TINA-TI [8], versión limitada del Toolkit for Interactive Network Analysis de la compañía DesignSoft. Este paquete de simulación, basado en el SPICE de Berkley y XSpice es distribuido de forma gratuita, bajo registro, por Texas Instruments.

Disponible para el S.O. Windows (XP, 7 y 8), basa su rápida convergencia en el procesamiento en paralelo y el uso de modelos precompilados.

Este paquete fue elegido después de evaluar distintas soluciones, tanto libres como comerciales, como *QUCS*, *NgSpice*, *KiCad*, *LTSpice*, *Multisim*, *Orcad PSpice*, etc. Se buscaba aunar una interfaz gráfica potente, buena convergencia y fidelidad de los algoritmos de simulación con un uso sencillo e intuitivo y una fácil disponibilidad para los alumnos. Descartadas las opciones comerciales, se optó por este entorno debido a sus bajos requisitos computacionales, sencillo manejo y la calidad de las gráficas generadas.

La simulación de los potenciales del nódulo sinoauricular (SA) se lleva a cabo a través del circuito mostrado en la figura 2. Hay que tener en cuenta que el modelo presenta una salida próxima a los 5V, muy superior a la registrada en tejido real ($\approx 100\text{mV}$).

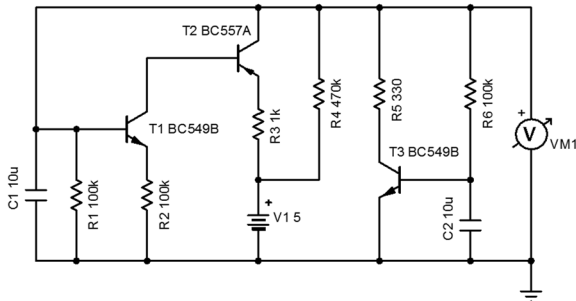


Figura 2. Circuito simulación nódulo sinoauricular

De forma similar, los potenciales en el ventrículo son simulados mediante el circuito de la figura 3.

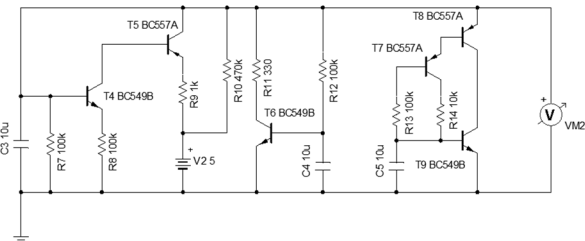


Figura 3. Circuito simulación del ventrículo

Con esta configuración es posible comprobar la sincronización de los tejidos cardíacos tras un breve periodo transitorio que precede al acoplamiento de ambos osciladores en torno a una única frecuencia de oscilación.

Para simular fallos en los generadores cardíacos basta con extinguir la corriente marcapasos I_{IN2} subiendo el valor de las resistencias R4 y R10 de $470\text{k}\Omega$ a $4,7\text{M}\Omega$.

El estudio del mecanismo de sincronización entre el nódulo sinoauricular (V_{M1}) y el tejido ventricular (V_{M2}) se lleva a cabo a través del circuito de la figura 4, que muestra la entrada de marcapasos externa (V_{G1}).

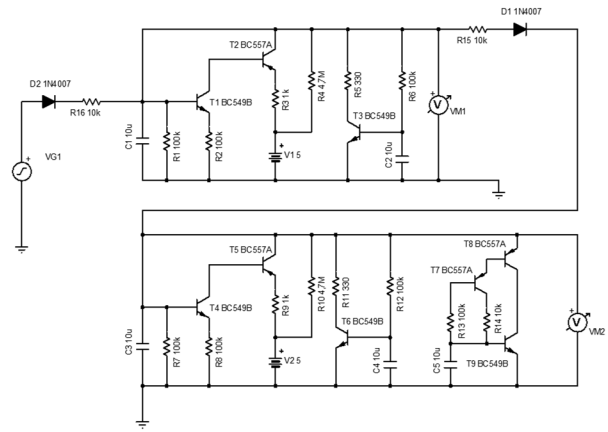


Figura 4. Circuito simulación con marcapasos externo

Para la integración numérica de las ecuaciones diferenciales se ha optado por el método del trapecio de orden 3.

Para el estudio de los circuitos propuestos se proporciona a los estudiantes un guion similar al utilizado en la caracterización posterior con el fin de familiarizarlos con los distintos procedimientos experimentales de la práctica antes de asistir al laboratorio.

2.2. Simulación hardware de potenciales cardíacos

La placa para la simulación hardware se entrega a los estudiantes a modo de kit (figura 5), de forma que sean ellos los que completen su montaje y verificación antes de la ejecución de la práctica en el laboratorio. Con esto se pretende mejorar sus competencias en el montaje de dispositivos electrónicos, en la línea propuesta por nuestro departamento en todas las asignaturas del área en la titulación.

La práctica está destinada a estudiantes de 4º año por lo que se presupone cierta habilidad en el manejo del osciloscopio y los útiles de soldadura. La mayor parte los estudiantes son capaces de completar el montaje en menos de 45 minutos.

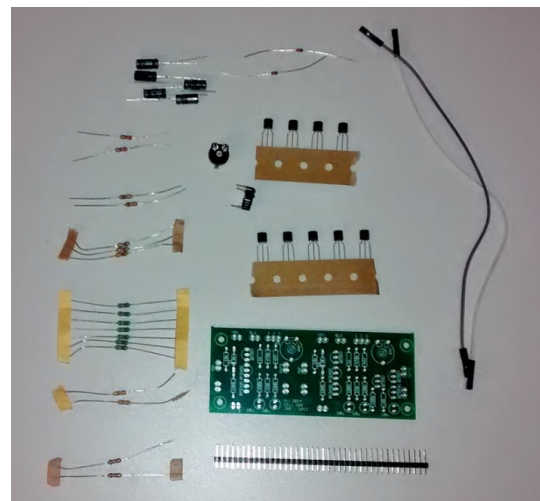


Figura 5. Materiales necesarios para el montaje

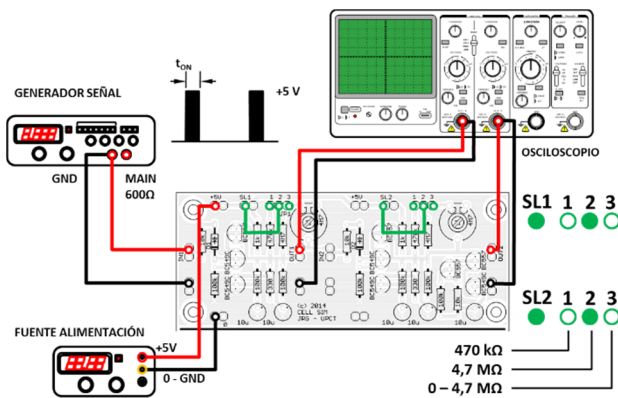


Figura 6. Conexiones para la simulación - marcapasos externo

La práctica se acompaña de un enunciado que va guiando al estudiante paso a paso, indicando las conexiones necesarias para la realización de cada experimento (figura 6). Por otra parte, se ha prestado especial cuidado a la disposición de los terminales de conexión en el diseño del PCB con el fin de maximizar la accesibilidad a las conexiones manteniendo un reducido tamaño de placa (1 cara, 100 x 40 mm).

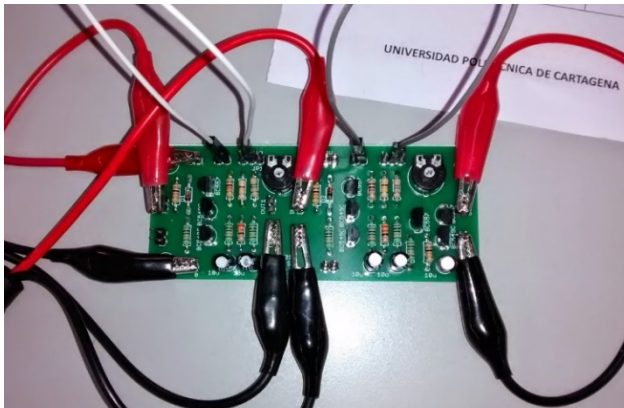


Figura 7. Ejemplo de montaje real

Con el fin de poder llevar a cabo distintas experiencias, ambos modelos pueden caracterizarse por separado o de forma conjunta. Para ello, se han incluido dos puentes de selección (SL1 y SL2) para las resistencias que limitan corriente marcapasos IIN2 (en adelante R_{IIN2} , R_4 y R_{10}).

Así, colocando el puente en la primera posición se selecciona un valor de 470kΩ, que fija un valor que garantiza el disparo del oscilador.

Por el contrario, si se selecciona la segunda posición, se anula la corriente marcapasos al colocar una resistencia limitadora de 4,7MΩ, lo que impide la oscilación espontánea del circuito.

Finalmente, se ha incorporado en placa un potenciómetro de 4,7 MΩ que permite explorar los límites de la corriente marcapasos y obtener distintas frecuencias de oscilación.

Los 11 experimentos que se pueden llevar a cabo en el laboratorio pueden verse en la tabla 1.

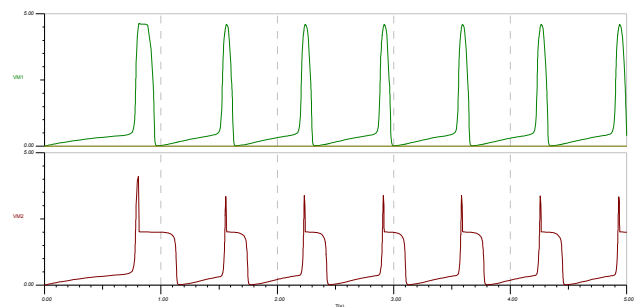
Modelo	Experimentos
SA	<ul style="list-style-type: none"> • Frecuencia de oscilación ($R_4=470k\Omega$) • Inhibición ($R_4=4,7M\Omega$) • Rango de oscilación (R_4 variable) • Marcapasos externo 5V@ 1Hz 10%
VN	<ul style="list-style-type: none"> • Frecuencia de oscilación ($R_{10}=470k\Omega$) • Inhibición ($R_{10}=4,7M\Omega$) • Rango de oscilación (R_{10} variable) • Marcapasos externo 5V@ 1Hz 10%
SA + VN	<ul style="list-style-type: none"> • Frecuencia de oscilación • Inhibición • Marcapasos externo 5V@ 1Hz 10%

Tabla 1. Relación de experimentos

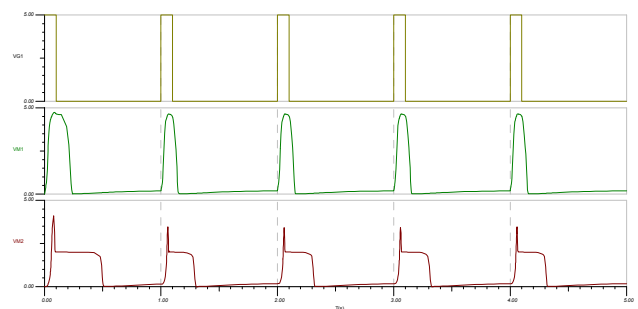
3. Resultados

3.1. Simulación software

La simulación bajo TINA del transitorio inicial puede verse en la figura 8a, donde se aprecia la sincronización espontánea entre los dos osciladores acoplados. La aplicación del marcapasos externo (Pulso TTL 1 Hz @ 10%) puede verse en la figura 8b.



a) Sincronización espontánea



b) Aplicación de marcapasos externo

Figura 8. Resultados de la simulación

3.2. Simulación hardware

La tabla 2 recoge algunos resultados experimentales obtenidos en laboratorio. Como se puede ver, los valores de frecuencia de oscilación de los circuitos aislados son distintos para ambos modelos (111 frente a 90 bpm) en condiciones normales.

Modelo	R_{IIN2}	f(Hz)	f(bpm)	$t_{ON}(ms)$
SA	470 k Ω	1,85	111	69
	4,7 M Ω	0	0	0
	Variable	0,45	27	96
VN	470 k Ω	1,51	90	208
	4,7 M Ω	0	0	0
	Variable	0,49	29	279
SA + VN	470 k Ω	1,87	112	69 ^{SA} 199 ^{VN}
	4,7 M Ω	0	0	0
	Variable	0,66	39	92 ^{SA} 273 ^{VN}
SA + VN Marcapasos	4,7 M Ω	3,93	235	51 ^{SA} 138 ^{VN}
		1.04	62	94 ^{SA} 271 ^{VN}

Tabla 2. Resultados experimentales

Por otra parte, al emplear los potenciómetros de ajuste para las resistencias R_{IIN2} se puede comprobar como esta sincronización se produce en un gran rango de valores de frecuencia de oscilación (39 – 235 bpm).

En la figura 9 puede verse una captura de la pantalla del osciloscopio (TDS2004B) en la que se recoge la sincronización del nódulo SA (canal 1, naranja) y el ventrículo (canal 2, cyan) con el marcapasos externo (pulso TTL @ 1Hz relación cíclica \approx 10% en el canal 3, magenta) cuando se inhibe la oscilación natural de ambos circuitos del modelo ($R4 = R10 = 4,7M\Omega$).

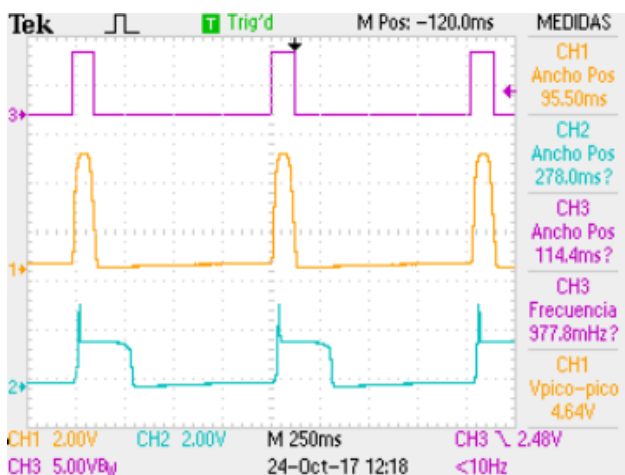


Figura 9. Detalle de la sincronización con el marcapasos

4. Conclusiones y futuros trabajos.

Esta unidad práctica fue introducida en el curso 2014/2015, habiendo pasado a formar parte de los contenidos de la asignatura optativa en Ingeniería Biomédica del Grado en Ingeniería Electrónica Industrial y Automática. Con la inclusión entonces de esta práctica se perseguían varios objetivos que, a día de hoy, consideramos plenamente logrados:

- Introducir a los estudiantes en el campo de la simulación de sistemas biológicos.
- Acercar a los estudiantes el proceso de generación elemental de potenciales bioeléctricos.
- Mostrar los principios básicos de funcionamiento de los marcapasos cardíacos.
- Realizar la comparación de resultados entre los paquetes de simulación basados en SPICE con circuitos reales montados en el laboratorio.

A la vista de los resultados obtenidos, se ha llevado a cabo el desarrollo de una placa de simulación de ECG basada en microcontrolador en la que los estudiantes programan la tabla de ondas a generar a partir de formas de onda reales descargadas desde Physiobank [9] procesadas bajo Octave. La intención de los autores es la de liberar ambos diseños bajo licencia Creative Commons para su difusión.

Agradecimientos

Desde aquí agradecemos la colaboración de los técnicos de laboratorio D. José Juan Rodríguez Martínez y D. Andrés Carrillo Casanova en la fabricación y montaje de los prototipos.

Referencias

- [1] Walczowski LT, Dimond K, Waller R, Winston AJ. International Journal of Electrical Engineering Education 37 (1), 2000, pp. 108-117 (ISSN 0020-7209)
- [2] Hodgkin, AL, Huxley AF, J. Physiol. 117, 1952, pp. 504-544 (ISSN 1469-7793)
- [3] Hoshimiya, N, Yoshida S, Shogen K. y Matsuo T, Biol. Cybern. 35, 1979, pp.125– 130 (ISSN 0340-1200)
- [4] Maeda, Y, Makino H, BioSystems 58, 2000, pp.93– 100 (ISSN 0303-2647)
- [5] Maeda Y, Yagi E y Makino H BioSystems 79, 2005, pp.125– 131 (ISSN 0303-2647)
- [6] Página web <http://people.ece.cornell.edu/land/> (Consultada: Septiembre 2017).
- [7] Othman N, Jabbar MH, Mahamad AK, Mahmud F.FPGA-in-the-Loop Simulation of Cardiac Excitation Modeling towards Real-Time Simulation. IFMBE Proceedings 5th International Conference on the Development of Biomedical Engineering (46) 5th International Conference on the Development of Biomedical Engineering, 2014, Ho Chi Minh City 2014, pp 203-206 (ISBN: 978-3-319-11776-8).
- [8] TINA-TI (v9.3.150.328 SF-TI) Texas Instruments by DesignSoft. (<http://www.ti.com/tool/tina-ti>).
- [9] Goldberger AL, Amaral LAN, Glass L, Hausdorff JM, Ivanov PCh, Mark RG, Mietus JE, Moody GB, Peng CK, Stanley HE. Circulation 101(23), 2000, e215-e220 (ISSN 0009-7322)

In-vitro Peripheral Nervous System on a chip

M. Badiola Mateos^{1,2}, A. Hervera Abad^{1,2,3,4}, M. J. López Martínez^{1,2,3}, M. Segura Feliu^{1,2,3,4}, J. A. del Río Fernández^{1,2,3,4}, J. Samitier Martí^{1,2,3*}

¹ Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC) - Barcelona Institute of Science and Technology, Barcelona, Spain.

² University of Barcelona, Barcelona, Spain

³ Centre for Networked Biomedical Research (CIBER-BBN and CIBER-NED), Madrid, Spain

⁴ Institute of Neuroscience, University of Barcelona, Barcelona, Spain

*Correspondence should be addressed to: jsamitier@ibecbarcelona.eu

Abstract

Neurological diseases affecting the Peripheral Nervous System (PNS), such as some Neuromuscular Diseases (NMD), often involve the afferent and efferent pathways of the PNS. Studying them requires mimicking the physiological microenvironment. The aim of this research is to use organs-on-a-chip technology to mimic the physiological microenvironment of the PNS, including myelination of Dorsal Root Ganglia neurons (DRGs) and motoneurons (MNs), providing the basis for future steps toward NMD study models. For that purpose, we first studied the viability of SW10 mouse Schwann cells when exposed to the media required for the primary culture of MNs or DRGs, observing SW10 viability decreased. These results suggested that a compartmentalised culture system is required. Schwann cells were also exposed to different biochemical stimuli to induce faster myelination, obtaining Horse Serum as a key component in the culture medium. A compartmentalised microfluidic device was fabricated, obtaining myelination of the PNS, seeding in different compartments Schwann cells with pro-myelinating medium with either primary MNs or DRGs. The afferent pathway of the PNS was successfully mimicked, whereas we faced some difficulties in working with MNs and analysing myelin sheath formation through transmission electron microscopy. To sum up, we have designed a PNS model that still needs to be optimised to better mimic the efferent pathway. This model provides the basis for further research on PNS and offers the possibility of an *in vitro* tool PNS and NMD diseases models.

1. Introduction and background

Neurological disorders affecting muscles and/or their control through nervous system, known as Neuromuscular Diseases (NMD), comprise several diseases with a different anatomical origin [1]. The prevalence range of 24 of these diseases is a total of 160/100.000 population (ranging from 0.1/100.000 to 60/100.000), reaching similar prevalence values to Parkinson's disease worldwide [1]. Conventionally these diseases have been studied *in vitro* coculturing muscle cells and neurons on the same dish [2,3], culturing tissue slices [4], or culturing neurospheres onto muscle fibres [5]. However, these models do not consider that: i) muscle and neurons are physically separated *in vivo* in and have different microenvironment requirements; ii) both sensory and motor neurons can be altered in particular NMD [6]; iii) glial cells are also affected and involved in several neuromuscular pathologies [2,7].

Organs-on-a-chip represent an alternative approach to overcome these problems. Organs-on-a-chip are microfluidic 2D or 3D cell-culture devices designed to mimic the microenvironment of functional units in organ or tissue level: multicellular architecture, tissue-tissue interfaces (flows and barriers), physicochemical microenvironments (chemical gradients, mechanical strain and electrical stimulation) and pathophysiology. Neuromuscular junction (NMJ) on a chip has frequently been studied by means of microfluidic platforms with two compartments connected through microchannels, either culturing motoneurons and skeletal muscle cells [8], or motoneurons and a myoblasts cell-line [9]. However, few of the currently existing studies suggest the use of a third chamber for myelination and synapsis assessment [10]. In addition, most of them do not consider i) putative glia roles, ii) do not mimic accurately biological or physiological conditions, and iii) to date, a whole motor unit circuit (Figure 1) is not reconstructed. In the model, motoneurons (MNs), arising from the Central Nervous System (CNS) spinal cord, innervate skeletal muscle cells connecting through neuromuscular junction (“efferent pathway”), and Dorsal Root Ganglia (DRGs) form a muscle spindle and send the signal back to the spinal cord (“afferent pathway”). Therefore, there is a need of a more accurate study model able to mimic the events taking place in NMD to find new therapies.

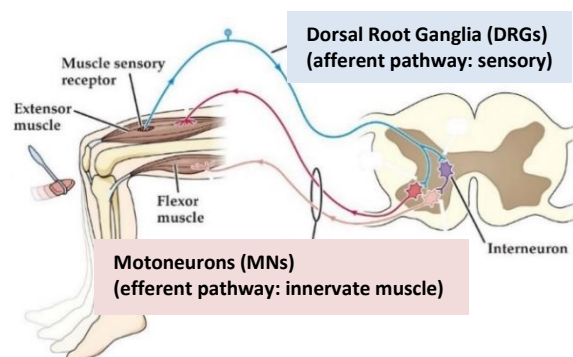


Figure 1. Motor unit (adapted from Purves et al.[11]).

The aim of this research was to mimic both afferent and efferent pathways of the PNS separately in a microfluidic device, providing preliminary data for further studies on

motor unit study models so as to find new therapies for NMD. For that purpose, the objectives were: to design, fabricate and characterise a microfluidic device; to create a PNS glia GFP positive cell line; to assess its viability when exposed to the media required for the primary culture of neurons (MN or DRGs); to induce its myelination; and to finally mimic the afferent and efferent pathways of the PNS on a chip.

2. Methodology

2.1. Microfluidic device

The microfluidic cell culture device is fabricated in polydimethylsiloxane (PDMS) by standard photolithography and soft lithography techniques as previously described [12]. The design (Figure 2) includes three microchambers, connected through microchannels, and supplied by a medium reservoir. The platform characterisation is performed through routine optic microscopy observation, profilometry, Scanning Electron Microscopy, and fluorescein assay to test microchannels connectivity.

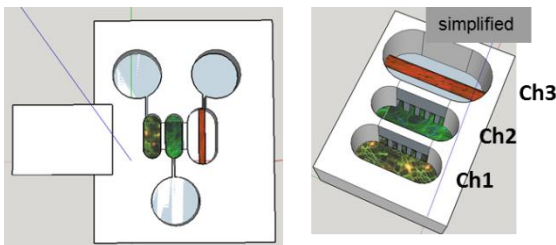


Figure 2. Design of the microfluidic device (not scaled proportionally). **Ch1** includes MNs or DRGs somas. **Ch2** mimics the PNS, including axons of MNs or DRGs and myelinating Schwann cells. **Ch3** mimics a muscle fibre and its connexion with neurons.

2.2. Cells

Primary MNs or DRG neurons together with an established Schwann cell line (ATCC, CRL-2766) were used for the experiments. DRGs were harvested from 6-8 weeks old adult mice and MNs were harvested from E12.5 mice.

As indicated, an eGFP transgenic mouse Schwann cell (SC) line was used. SW10 cells were infected with an eGFP positive lentivirus (pLenti-CMV-MCS-GFP-SV-puro plasmid, Addgene) and were purified through Fluorescence Activated Cell Sorting (FACS), obtaining a cell line of GFP positive Schwann cells (SW10-GFP⁺).

2.3. Glia viability assay

To assess the viability of SC after MN media diffusion, SC were seeded on SC media: DMEM, 1% penicillin-streptomycin, 1% sodium-pyruvate, 10% foetal bovine serum (FBS). Two days later the media was changed to MN media: 95% Neurobasal media, 2% B27, 2% horse serum (HS), 1% penicillin-streptomycin, 0.025% Glutamine, 0.02% GDNF, 0.02% CNTF, 0.5% cytosine arabinoside (AraC) 1.5 μ M. A Propidium Iodide viability test was performed on Schwann cells as previously reported [13], together with a morphology analysis for a period of 5 days, using as control SW10 cultured with SC media.

In order to verify the viability of Schwann cells with DRG media (DMEM F12 1:1, 1% penicillin-streptomycin, 2% B27), a morphology analysis was performed, with SW10-GFP⁺ cells, followed by a viability assay through morphology analysis with DRGs media plus different nutrients to find out the essential media requirements.

2.4. Myelin protein production analysis

To find a pro-myelinating medium, different media compositions were tested on SW10-GFP⁺ cells: **1)** SC media; **2)** SC medium + horse serum (HS); **3)** SC medium + AraC; **4)** SC medium + HS + AraC; **5)** DRG medium + FBS; **6)** DRG medium + FBS + HS; **7)** DRG medium + FBS + AraC; **8)** DRG medium + FBS + HS + AraC; **9)** DRG conditioned medium (DRG medium with the secretome of DRGs obtained over 24h culture and filtered at 0.2 μ m) + FBS; **10)** DRG conditioned media + AraC. Cells were lysated at 1-4-7 DIV (days in vitro) and protein lysates were analysed through Western Blot.

2.5. Peripheral nervous system (PNS) on a chip

To mimic afferent and efferent pathways of the PNS separately, DRGs or MNs were cultured in *chamber-1* (Figure 2) or petri dishes for controls at a density of 2 \cdot 10⁴ cells/cm² or 1 \cdot 10⁵ cells/cm² respectively. In both cases, once neurons crossed the microchannels, after 12 DIV, SW10-GFP⁺ cells were cultured on the *chamber-2* with promyelinating medium at a density of 1,5 \cdot 10³ cell/cm². Cells were fixed after 2, 5 or 7 days of coculture (total of 14, 17 and 19 DIV for the primary culture) and immunostained against TUJ1 and MBP proteins.

A transmission electron microscopy (TEM) analysis was performed on cultures of DRGs and SW10-GFP⁺ cells seeded on petri dishes fixed after 17 DIV (5 days of coculture) to look for myelin sheath formation.

3. Results

3.1. SW10 viability assay

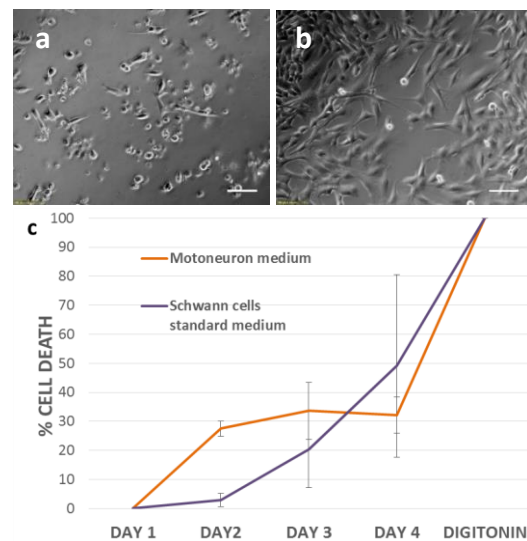


Figure 3. Viability test performed with SC in MN media. Scale bar: 100 μ m. **a)** SW10 cells cultured in MN media after 2DIV. **b)** Cells cultured in SW10 culturing SC media after 2DIV. **c)** Propidium iodide analysis over 4 days, where average and standard deviation are shown for n=3.

The viability test performed showed that MN media induced higher cell death in SW10 cells, as compared to its own standard medium, especially in the first 24h (*Figure 3*). Results of the viability test performed with SW10-GFP⁺ cells in DRG media show that they do not survive (*Figure 4b*). When culturing on DRG media with different nutrients from the SW10 culturing standard media, it can be seen that they only survive when adding FBS (*Figure 4e*).

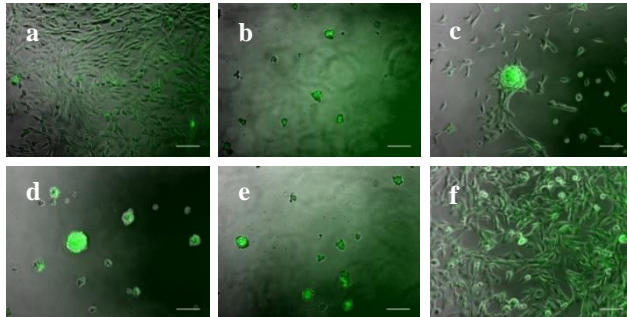


Figure 4. Viability test performed with SW10-GFP⁺ cells in DRGs medium. Scale bar: 100µm. **a)** Cells cultured on SW10 culturing standard media. **b)** Cells cultured on DRGs media. **c)** Cells cultured on DRG media + 1% standard media. **d)** Cells cultured on DRG media + 1% Sodium pyruvate. **e)** Cells cultured on DRG media + 4,5mg/mL glucose. **f)** Cells cultured on DRG media + 10% FBS.

3.2. Myelin protein production analysis

The promyelinating medium test tried in SW10 cells show that all media tested containing AraC 1.5µM induced cellular dead after 2DIV (results not shown) and all conditions that included HS in the media induced higher MBP production levels, when compared to same media without HS and to DRG conditioned media used (*Figure 5*).

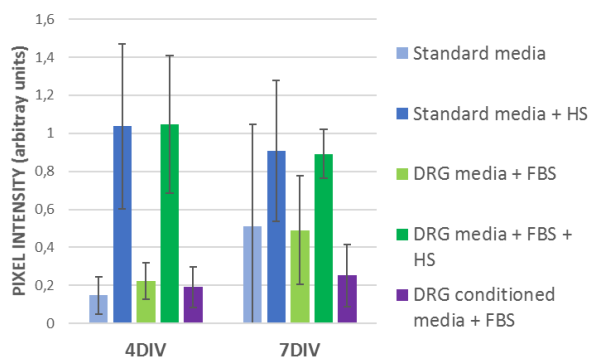


Figure 5. Quantification of Western blot results. Myelin base protein (MBP) expression levels produced by SW10-GFP⁺ cells under different experimental media conditions. MBP pixel intensity arbitrary units average and standard deviation are shown on tested conditions at 4 and 7 DIV for n=3.

3.3. Peripheral nervous system (PNS) on a chip

The afferent pathway of the PNS was successfully mimicked, obtaining myelinated DRG axons by Schwann cells, as well as myelin sheaths (*Figure 6*). Apposed membranes were also detected in TEM, but classic myelin formation was not observed (*Figure 7*).

The efferent pathway of the PNS was not successfully mimicked as MN died after 14 DIV (2DIV coculture), not providing enough time to induce myelination under tested conditions (not shown).

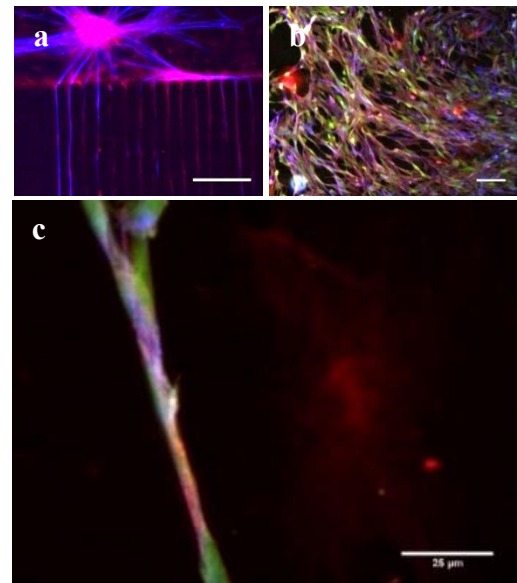


Figure 6. Immunostaining images of afferent PNS-on-a-chip after 19DIV (7 days cocultured). MBP was stained in red and TUJ1 in blue. **(a)** DRGs seeded in chamber-1 cross microchannels towards chamber-2, **(b)** where Schwann cells (SW10-GFP⁺) myelinate the axons, (scale bar 100µm). **(c)** In few cases, a myelin sheath formation was observed (scale bar 25µm).

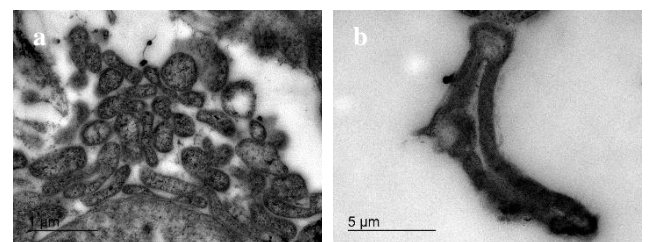


Figure 7. TEM analysis results of the DRGs and SW10 coculture after 17 DIV (5 days of coculture). **a)** Transversal cut of the axons (scale bar 1µm). **b)** Longitudinal cut of an axon (scale bar 5µm).

4. Discussion

Organs-on-a-chip present a promising alternative to conventional *in vitro* study models. The platform designed here offers the opportunity to culture in 2D different cell types, connecting them through microchannels and mimicking the Nervous System microenvironment. Additionally, the compartmentalisation of the device and the fluidic resistance diminishes the media diffusion from one chamber to the other, avoiding possible cell damage caused by undesired components in the media, as shown in *Figure 3* and *Figure 4*.

Results from the myelination induction study performed here show that DRG media + FBS + HS could be an alternative media to induce faster myelination (*Figure 5*), providing suitable conditions to DRGs, and the minimum FBS required to Schwann cells (*Figure 4*). However, AraC,

suggested as inhibitor to decrease proliferation, is toxic at a concentration of 1.5 μ M (Figure 3).

PNS-on-a-chip was successfully mimicked for the afferent pathway, obtaining myelination as well as formation of myelin sheaths (Figure 6). Although, apposed membranes were observed in TEM, classical myelin sheath was not observed (Figure 7).

We are currently working on fine tuning the parameters to establish the model with the efferent pathway using same system described for the afferent pathway. In addition to present data, several studies coculturing primary MNs and primary Schwann cells achieve myelination and synapse formation in long term cultures [2,14,15]. Some studies that coculture DRGs and primary Schwann cells also report successful myelination [2,16]. However, working with cell lines together with primary cells represents a challenge due to different proliferation rate as well as media requirements. Most studies that culture MN or DRGs with primary SC, perform cocultures [2,14–16]. Compared to them, the study model presented here separates physically somal and axonal compartments, offering the possibility to: i) have different medium supply for each compartment; ii) stimulate or assess differentially axonal and somal compartments; iii) adapt the study model for NMD, mimicking better physiological conditions, where somas are clustered and away from axons, distal to muscle fibers.

Our model represents first steps towards a complete miniaturisation of a PNS sensorimotor unit on a chip. We believe this is a key element in order to obtain a fully functional *in vitro* model that will facilitate the study and characterisation of both the afferent and efferent pathways of the PNS and their roles in Neuromuscular Diseases.

5. Future steps

The work here presented provides the basis for further steps toward NMD study models on microdevices. Future work for this research includes to successfully recreate the efferent PNS pathway on a chip. Afterwards, muscle cells will be included to complete the motor unit model.

Acknowledgements

The Nanobioengineering SIC-BIO group are supported by the Commission for Universities and Research of the Department of Innovation, Universities, and Enterprise of the Generalitat de Catalunya (2014 SGR 1442). This work was partially supported by the MINDS project (TEC2015-70104-P), awarded by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness and the CERCA program from Generalitat de Catalunya. CIBER-BBN is an initiative funded by the VI National R&D&i Plan 2008-2011, Iniciativa Ingenio 2010, Consolider Program, CIBER Actions and financed by the Instituto de Salud Carlos III with support from the European Regional Development Fund. The authors would like to thank IBEC Nanotechnology platform, for their technical support with the microfabrication. And finally, thanks to previous committees organised by CASEIB, for allowing generously to use their guides.

References

- [1] Deenen JCW *et al.* The epidemiology of neuromuscular disorders: a comprehensive overview of the literature. *Journal of Neuromuscular Diseases*, vol 2, sup 1, 2015, pp 73–85 (ISSN: 2214-3599).
- [2] Vilmont V *et al.* A system for studying mechanisms of neuromuscular junction development and maintenance. *Development*, vol 143, sup 13, 2016, pp 2464–2477 (ISSN: 0950-1991).
- [3] Hunter G *et al.* SMN-dependent intrinsic defects in Schwann cells in mouse models of spinal muscular atrophy. *Human Molecular Genetics*, vol 23, sup 9, 2014, pp 2235–2250 (ISSN: 1460-2083).
- [4] Tang-Schomer MD *et al.* Bioengineered functional brain-like cortical tissue. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol 111, sup 38, 2014, pp 13811–13816 (ISSN: 0027-8424).
- [5] Morimoto Y *et al.* Three-dimensional neuron–muscle constructs with neuromuscular junctions. *Biomaterials*, vol 34, sup 37, 2013, pp 9413–9419 (ISSN: 01429612).
- [6] Jablonka S. Distinct and overlapping alterations in motor and sensory neurons in a mouse model of spinal muscular atrophy. *Human Molecular Genetics*, vol 15, sup 3, 2005, pp 511–518 (ISSN: 0964-6906).
- [7] Lobsiger CS, Cleveland DW. Glial cells as intrinsic components of non-cell-autonomous neurodegenerative disease. *Nature Neuroscience*, vol 10, sup 11, 2007, pp 1355–1360 (ISSN: 1097-6256).
- [8] Southam KA *et al.* Microfluidic primary culture model of the lower motor neuron–neuromuscular junction circuit. *Journal of Neuroscience Methods*, vol 218, sup 2, 2013, pp 164–169 (ISSN: 01650270).
- [9] Tong Z *et al.* Engineering a functional neuro-muscular junction model in a chip. *RSC Adv.*, vol 4, sup 97, 2014, pp 54788–54797 (ISSN: 2046-2069).
- [10] Johnson BN *et al.* 3D printed nervous system on a chip. *Lab Chip*, vol 16, sup 8, 2016, pp 1393–1400 (ISSN: 1473-0197).
- [11] Purves D *et al.* Neuroscience, 3rd ed. Sinauer Associates, Inc., 2004 (ISBN: 0-87893-725-0).
- [12] Park JW *et al.* Microfluidic culture platform for neuroscience research. *Nature Protocols*, vol 1, sup 4, 2006, pp 2128–2136 (ISSN: 1754-2189).
- [13] Vilches S *et al.* Domain-specific activation of death-associated intracellular signalling cascades by the cellular prion protein in neuroblastoma cells. *Molecular Neurobiology*, vol 53, sup 7, 2016, pp 4438–4448 (ISSN: 0893-7648).
- [14] Hyung S *et al.* Coculture of primary motor neurons and Schwann cells as a model for *in vitro* myelination. *Scientific Reports*, vol 5, sup 1, 2015, pp 15122 (ISSN: 2045-2322).
- [15] Haastert K *et al.* Rat embryonic motoneurons in long-term co-culture with Schwann cells — a system to investigate motoneuron diseases on a cellular level *in vitro*. *Journal of Neuroscience Methods*, vol 142, sup 2, 2005, pp 275–284 (ISSN: 01650270).
- [16] Päiväläinen S *et al.* Myelination in mouse dorsal root ganglion/Schwann cell cocultures. *Molecular and Cellular Neuroscience*, vol 37, sup 3, 2008, pp 568–578 (ISSN: 10447431).

MÁSTER VIRTUAL EN INGENIERÍA BIOMÉDICA CON COOPERACIÓN AL DESARROLLO

E. Hilario Rodríguez¹, P. Galván², F.J. Álvarez Díaz³, D. Alonso Alconada¹, A. Álvarez Díaz¹

¹ Departamento Biología Celular e Histología, Universidad País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea, Leioa, Bizkaia, España. enrique.hilario@ehu.eus daniel.alonsoa@ehu.eus antoniaangeles.alvarez@ehu.eus

² Departamento de Ingeniería Biomédica e Imágenes del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS) de la Universidad Nacional de Asunción (UNA). ibiomedica@iics.una.py

³ Instituto Biocruces, Hospital Universitario de Cruces, Cruces, Barakaldo, España. franciscojose.alvarezdiaz@osakidetza.eus

Resumen

En el presente trabajo presentamos nuestra experiencia en desarrollar un programa de máster oficial en Ingeniería Biomédica. Para ello nos planteamos un lugar en común con las ingenierías en el cual las necesidades en salud pudieran ser percibidas por los ingenieros a fin de desarrollar soluciones. Para conseguir el nivel adecuado, consideramos fundamental que la docencia de los conocimientos sea realizada por expertos de las respectivas áreas. Además, el máster nació con una clara vocación de ayuda al Desarrollo. Por ello, se trata de un máster impartido de forma virtual con el propósito de que cualquier alumno, desde cualquier punto lo pueda cursar (a excepción de las prácticas, que son presenciales y que las puede llevar a cabo en diferentes Centros Tecnológicos). En el presente máster se pretende llevar los estudios de tecnología e instrumentación biomédica a titulados superiores de distintas especialidades tanto de la ingeniería como de la biomedicina para la gestión, evaluación y aplicación de la tecnología sanitaria en el ámbito de la salud. Tiene una marcada vocación supranacional, donde la experiencia española y paraguaya en el área de la Ingeniería Biomédica se conjuga para ofrecer a los interesados en dicho postgrado una formación integral, globalizada y sobre todo competitiva. El máster se estructura en tres bloques: uno teórico que se imparte completamente on-line, un Practicum en empresas Tecnológicas y un Trabajo Fin de Máster que se defiende de manera presencial, o bien mediante videoconferencia.

1. Introducción

El avance de las ciencias está interconectado, y el conocimiento en todos los campos está condicionado al avance de otras disciplinas y sobre todo al desarrollo tecnológico; que permite desentrañar las incógnitas. Como ejemplo comentaremos los siguientes hechos. Anton van Leeuwenhoek (1632-1723), fue un comerciante preocupado por la calidad de las lanas que importaba y para ello ideó y fabricó unas lentes que le permitiesen analizar con mayor finura los distintos tejidos. Fue coetáneo de Robert Hooke (1635-1703), quien ya utilizó el microscopio compuesto e introdujo el concepto de célula al observar las celdillas que existían en un corcho. Sin embargo, aunque la teoría celular fue postulada a mediados del siglo XIX, no fue sino hasta finales del primer tercio del siglo XX, cuando se dio otro salto cualitativo con la invención del

microscopio electrónico que permitió desentrañar la estructura interna de las células y de los tejidos.

La Ingeniería Biomédica es un campo multidisciplinar que, básicamente, se encarga de aplicar los conocimientos de las ingenierías a la medicina [1,2]. Sin embargo, en la práctica también se incluyen la ingeniería celular y molecular, y la óptica; entre otras. Su desarrollo está siendo espectacular y de ahí la necesidad de poner en marcha programas educativos tendentes a formar a las personas que tienen interés en este campo.

La demanda de ingenieros para la concepción, diseño, fabricación, evaluación y certificación, comercialización, instalación, mantenimiento, calibración, reparación, modificación y adiestramiento en el uso de equipos e instrumentos médicos, ha ido creciendo conforme los avances en la tecnología médica han planteado cuestiones sobre su eficacia, eficiencia y seguridad. Estos aspectos esenciales de las tecnologías y productos sanitarios están actualmente contemplados en las directivas europeas y en las legislaciones de todos los países desarrollados.

El sector de las biociencias vasco es, como sus homólogos en Europa, un sector emergente y en continuo crecimiento, en el que la actividad de Investigación y desarrollo (I+D) se realiza de forma intensiva, e internacionalizada. La I+D biomédica genera nuevo conocimiento, respondiendo a preguntas sobre el funcionamiento de los organismos, que eventualmente desemboca en el desarrollo de nuevos productos, procesos o servicios para prevenir, diagnosticar, monitorizar, tratar y/o cuidar mejor a los pacientes, o de estrategias para la promoción de la salud. El desarrollo de esas innovaciones por parte del tejido empresarial, en conexión con agentes científico-tecnológicos como la UPV/EHU y el sistema sanitario de la Comunidad, supone una contribución a la creación de empleo, riqueza y desarrollo socioeconómico del entorno en el que se produce.

Esto nos hizo plantearnos un Máster Universitario con la finalidad de formar profesionales altamente cualificados en Ingeniería Biomédica, como disciplina científica y tecnológica que aplica los principios y los métodos de la

ingeniería, ciencia y tecnología para la comprensión, definición y resolución de problemas biológicos y médicos. Los alumnos egresados, por lo tanto, estarán capacitados para desarrollar sus actividades en puestos de trabajo y responsabilidad en el campo de la Ingeniería Biomédica, tanto en el ámbito industrial, como sanitario y de I+D+I.

Por otro lado, en el máster planteamos llevar los estudios de tecnología e instrumentación biomédica a titulados superiores de distintas especialidades con una vocación en el área de la ingeniería biomédica puedan conjugarse para ofrecer a los interesados en dicho postgrado una formación integral, globalizado y sobre todo competitivo. Este máster postgrado tiene una gran relevancia para el gerenciamiento de la tecnología aplicada en el área de la salud y con ello alto impacto sobre los costos, la eficiencia, la seguridad y la equidad en el acceso a la tecnología sanitaria a nivel regional, nacional e internacional.

2. Metodología y Estructura

Desde la UPV/EHU buscamos expertos, altamente cualificados que pudieran sumarse a nuestro proyecto con los que poder establecer alianzas sinérgicas. Establecimos contacto con especialistas de la Ingeniería Biomédica en la Facultad Politécnica y en el Instituto de Investigaciones Sanitarias en Ciencias de la Salud, de la Universidad Nacional de Asunción del Paraguay. Juntos, formamos un equipo multidisciplinar e internacional, que tuvo la suerte de contar con la confianza de la Agencia Española de Cooperación Internacional al Desarrollo (AECID) del Ministerio de Asuntos Exteriores de España (ver agradecimientos).

El máster contiene las materias que consideramos son necesarias para que los alumnos, una vez finalizado con éxito el Máster, estén capacitados para la creación de empresas de base tecnológica, diseño de proyectos de investigación con esa base tecnológica, realización y presentación de trabajos de investigación, adquieren habilidades y técnicas de comunicación en el ámbito científico biosanitario y tecnológico en Biomedicina y que abarcan aspectos metodológicos y de orientación profesional en biotecnológica.

La planificación docente del máster incluye tres apartados bien delimitables [3]: aspectos teóricos avanzados, prácticas en empresas y realización de trabajo de Fin de Máster por parte del alumno. El primer apartado se organiza en una primera materia que denominamos de nivelación y que consta de cuatro créditos (Introducción a la Biomedicina) para los profesionales que provengan de grados de ingeniería en la que se les imparten temas básicos de medicina y otra materia de nivelación (Introducción a la Bioingeniería) para los profesionales procedentes de la Biomedicina en los que se les instruye en temas básicos de ingeniería. En este sentido, se pretende dotar a todos los alumnos del máster de una base mínima para poder atender el máster. Posteriormente hay una serie de materias Obligatorias y finalmente Optativas, que se agrupan en cuatro orientaciones o Itinerarios: Gestión Tecnológica en Salud, Informática Biomédica, I+D+I y Tecnología Médica.

El alumno puede escoger entre una amplia gama de asignaturas, pudiendo cursar las tres materias optativas del mismo bloque o bien cursar tres materias de diferentes bloques, de manera que personaliza su aprendizaje y construye su propio curriculum.

Este máster pretende proporcionar una formación avanzada en Ingeniería Biomédica tanto teórica como práctica, que abarque aspectos clínicos y experimentales. La casuística de estudio es lógicamente muy amplia, y por ello el temario incluye un importante número de materias optativas con las que el alumno puede conseguir una formación personal y específica, adecuada al perfil de sus intereses.

Referente a la metodología docente, al ser una docencia virtual, los profesores imparten las materias, simultáneamente a todos los alumnos, con independencia de la Universidad de procedencia, sin necesidad de movilidad ni por parte de alumnos ni de los profesores. Para la adecuada docencia se cuenta con sistemas de apoyo al e-learning tales como videoconferencias, la Plataforma del Campus Virtual de la UPV/EHU y la Plataforma de Campus Virtual de la Universidad Nacional de Asunción.

De manera resumida, el profesorado pone a disposición de los alumnos diferente material (documentos Word, presentaciones power point, artículos de investigación en pdf, enlaces web, videos, etc.) que ellos pueden consultar durante el periodo de impartición de la materia y que tendrán un seguimiento por parte de los correspondientes profesores, los cuales evaluarán los conocimientos adquiridos mediante diferentes instrumentos de evaluación (preguntas tipo test, redacción de documentos y diseño de esquemas, etc.). El trabajo de evaluación continua se irá añadiendo al portfolio de cada alumno.

Durante la realización del máster, la docencia teórica se lleva a cabo de manera virtual y por lo tanto se evitará la movilidad de los estudiantes y reducirán costes. Ello no impide que aquellos alumnos que deseen tener un contacto presencial con cualquiera de los profesores puedan hacerlo. De esta forma, es posible la interacción bien de forma presencial como mediante videoconferencias. En este sentido, la defensa de los Trabajos Fin de Máster, también puede realizarse mediante videoconferencia.

Es obligatoria la realización de un Trabajo Fin de Máster. Las horas correspondientes a la ejecución de este trabajo están incluidas en los 14 créditos ECTS asignados. Tiene como objeto adquirir experiencia práctica en algunos de los perfiles profesionales de la Ingeniería Biomédica, tanto en el ámbito industrial, como sanitario e investigador. El trabajo debe de ser original, y consistir en la elaboración y desarrollo de un trabajo relacionado con los temas que se han desarrollado en la docencia del máster (tanto teórica como práctica). Para la realización de dicho trabajo se podrá contar con la colaboración de las empresas que participan en las prácticas externas: desde empresas del sector de la tecnología sanitaria, centros sanitarios y/o centros de I+D+I que orientan su actividad a este ámbito.

Las prácticas en las empresas colaboradoras sí requieren el desplazamiento de los alumnos a las mismas. Se

proporciona información de los convenios de cooperación existentes y de las posibles ayudas para financiar la movilidad. Entre las entidades colaboradoras con convenio aparecen Asociación Instituto Bionostia con convenio para dirección de Trabajos de Fin de Máster e impartición de docencia teórica y práctica, Fundación Rioja Salud (TFMs y docencia teórico-práctica), BioCruces (TFMs y docencia teórico-práctica), GAIKER Centro Tecnológico (TFMs, tesis doctorales y docencia teórico-práctica), HISTOCELL S.L. (TFMs y docencia teórico-práctica), INNOPROT (TFMs y docencia teórico-práctica), IVI Bilbao (TFMs, tesis doctorales y docencia teórica), Tecnalía (TFMs, tesis doctorales y docencia teórico-práctica), Vicomtech - Asociación Centro de Tecnologías de Interacción Visual y Comunicaciones (TFMs, tesis doctorales y docencia teórico-práctica), 3dB Consultores (docencia práctica); así como otras entidades colaboradoras con convenio para la impartición de prácticas como: Azti Tecnalía, Conacyt, FATRONIK e INASMET, entre otras.

Este título tiene reconocido el Nivel 3 del Marco Español de Cualificaciones para la Educación Superior (MECES) y se corresponde con el Nivel 7 del Marco Europeo de Cualificaciones (EQF), de acuerdo con lo establecido en el Real Decreto 22/2015, de 23 de enero (BOE 07/02/2015).

Los objetivos generales que se pretenden alcanzar son:

- 1.-Introducir al alumno en el campo de la Ingeniería Biomédica, dándole la capacidad de la aplicación de estos conocimientos en investigación y resolución de problemas.
- 2.-Proporcionar al alumno una base sólida, tanto teórica como práctica, para iniciar un trabajo en el diseño de instrumentación y tecnología biosanitarias.
- 3.-Capacitar al titulado para que sea capaz de incorporarse de forma inmediata a una actividad profesional en una empresa de Innovación Tecnológica.
- 4.-Capacitar a los profesionales para la validación de tecnologías sanitarias.

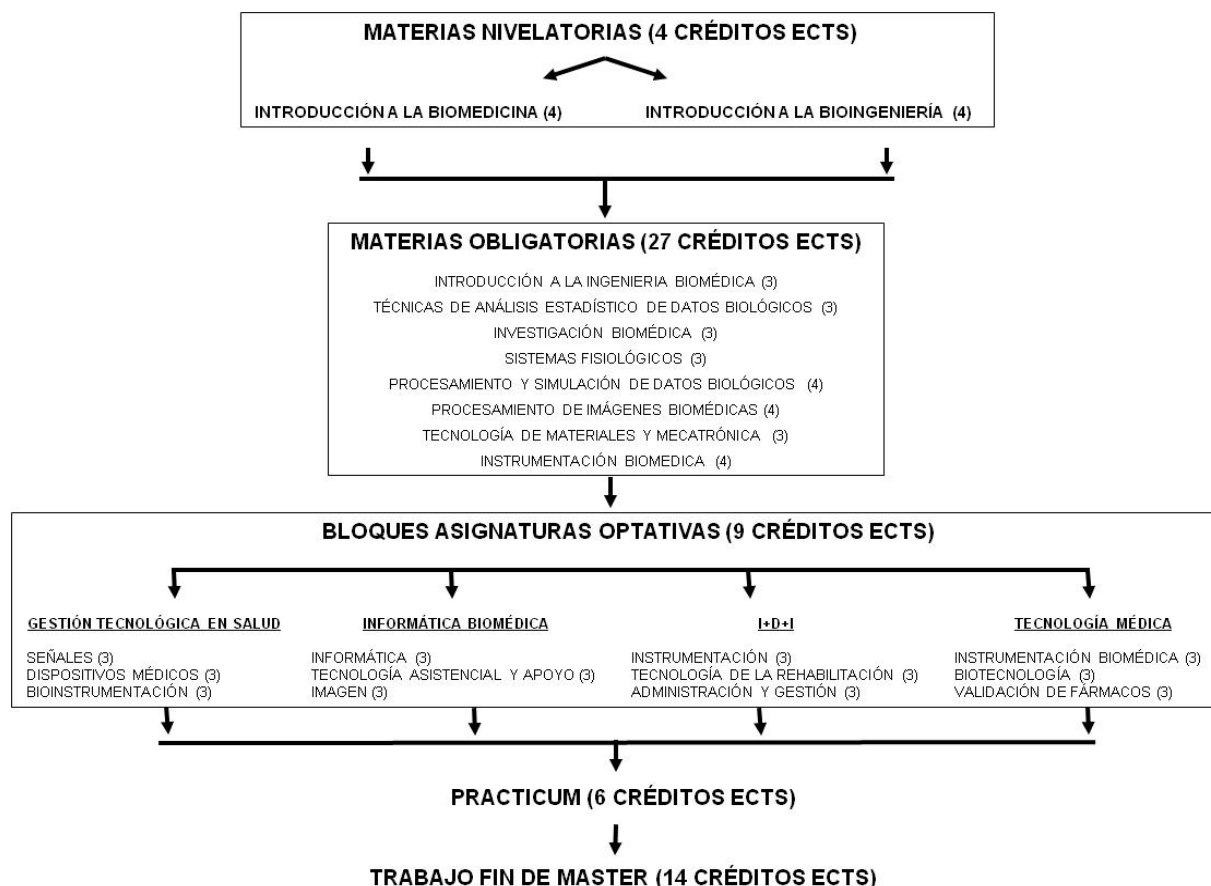


Figura 1. Estructura general del Máster

Los diferentes profesores que participan en la docencia del máster participan en diferentes líneas de investigación que se ponen en conocimiento del alumnado con el fin de orientarle sobre el perfil del profesorado (consultar: <http://www.ehu.es/es/web/ingenieriabiomedica/ikerketalarroak>).

Con ello se pretende que los alumnos alcancen las siguientes competencias:

- 1.-Aplicar las herramientas tecnológicas de la información y comunicación (Tics) en el campo de la ingeniería biomédica.

- 2.-Conocer campos de actuación interdisciplinar entre la ingeniería y las ciencias biomédicas.
- 3.-Desarrollar habilidades para la gestión de tecnológicas en el campo de la salud.
- 4.-Desarrollar habilidades para la innovación de tecnologías existentes o para el desarrollo de nuevas.
- 5.-Identificar las potencialidades de la tecnología para la aplicación en la biomedicina.
- 6.-Ser capaz de innovar, desarrollar e investigar de forma interdisciplinar y colaborativa en ingeniería biomédica.
- 7.-Ser capaz de validar procesos, organizaciones y dispositivos biomédicos.
- 8.-Utilizar las herramientas de la Ingeniería Biomédica y Medicina para plantear soluciones interdisciplinares.

Las prácticas del máster en Ingeniería Biomédica son obligatorias, y corresponden a 6 créditos ECTS, equivalentes a un mes de prácticas en las empresas/instituciones o entidades que tienen convenio firmado con la UPV/EHU. Son presenciales y el calendario y el perfil de los candidatos se acuerda con cada empresa, ajustándose a sus necesidades y capacidades.

Las prácticas no están remuneradas económicamente, ni se establece ningún tipo de contrato, beca o subvención por parte de la Universidad o de las empresas.

Para la adjudicación de las prácticas, la Comisión de Prácticas formada por profesores del máster y por representantes de las empresas, estudian y cotejan el CV de cada alumno con los ámbitos profesionales desarrollados por ellas. La Comisión de Prácticas publica el listado de adjudicación de las prácticas, incluyendo información necesaria, referente al perfil del alumno, la empresa, al instructor de las prácticas, el calendario, etc. Antes de que el alumno comience a realizar las prácticas, se establece un Plan docente firmado tanto por el tutor de la UPV/EHU, como por el representante legal de la empresa, el instructor de la misma y por el propio alumno, en el que se detallan las actividades que en alumno desarrolla durante las prácticas, así como las competencias que tiene que alcanzar.

3. Resultados

La propuesta del máster fue presentada a la ANECA en 2010, quien la aprobó con mínimos cambios [4], sugiriendo fundamentalmente que elimináramos las referencias a especialidades y se sustituyeran por itinerarios, para evitar confusiones.

El total de los indicadores referentes a los cursos impartidos, número de alumnos (perfiles entrada, ...), prácticas realizadas, inclusión mercado laboral, pueden consultarse en la página web indicada en la referencia número 4.

Las tablas presentadas a continuación constituyen un resumen de algunos indicadores,

DIMENSIÓN/INDICADOR	2014/2015	2013/2014	2012/2013	2011/2012
1. Oferta y demanda de plazas				
Oferta de plazas	20	15	15	15
Matrícula de nuevo ingreso	17	18	12	16
Matrícula de nuevo ingreso Vía de acceso a los estudios TÍTULO UNIVERSITARIO ESPAÑOL	14	18	9	15
Matrícula de nuevo ingreso Vía de acceso a los estudios TÍTULO UNIVERSITARIO DEL EEES	0	0	0	1
Matrícula de nuevo ingreso Vía de acceso a los estudios TÍTULO UNIVERSITARIO AJENO AL EEES	3	0	3	0
Matrícula de nuevo ingreso en su primera opción	15	17	12	16
Preinscritos en primera opción	36	27	26	24
Preinscritos en segunda y sucesivas opciones	19	19	24	8
Preferencia de la titulación.	1.80	1.80	1.73	1.60
Adecuación de la titulación.	88.24	94.44	100.00	100.00
2. Resultados de aprendizaje				
Tasa de Rendimiento (CURSA)	88.59	87.65	80.77	98.48
Tasa de Rendimiento 1º	88.59	87.65	80.77	98.48
Tasa de Éxito	100.00	100.00	100.00	100.00
Tasa de Evaluación	88.59	87.65	80.77	98.48
3. Oferta docente				
% de créditos impartido por profesores doctores de la UPV/EHU	54.59	50.05	50.05	46.12
% de créditos impartido por profesorado externo a la UPV/EHU	44.01	46.36	46.36	48.52
Ratio sexenios/créditos UPV/EHU	1.99	1.94	1.79	1.73
4. Indicadores de gestión				
Duración media de los estudios	1.38	1.14	1.00	1.00
Nº medio de créditos reconocidos	0.00	1.00	0.00	0.00

Tabla 1. Resumen de los principales indicadores a lo largo de los 4 primeros años de impartición del máster.

4. Discusión

A pesar de la complejidad del máster, tanto por su carácter virtual como por el número y procedencia de los profesores, no ha habido grandes problemas en su implementación. Quizás el tema que más debate ha suscitado ha sido la duración/créditos de las materias de nivelación, puesto que somos conscientes que se necesitarían más tiempo /créditos para poder dar a los alumnos una base más sólida tanto en Medicina como en Ingeniería. Sin embargo, se ha considerado que hacer este tipo de acción conllevaría o un incremento en el tiempo de duración del máster, o reducir los créditos/materias específicas del máster. Esta posible carencia sin embargo se ve compensada con el esfuerzo que llevan a cabo los alumnos para alcanzar un nivel adecuado y la dedicación en horas de tutoría del profesorado que les acompaña a lo largo del máster.

Una de las fortalezas del presente máster, en comparación con otros másteres y grados en Ingeniería Biomédica, tanto a nivel regional como estatal, es la participación de profesorado médico lo cual conlleva el que sean expertos en las áreas de Medicina los que impartan los temas relacionados con la Medicina (la mayoría de ellos titulares y catedráticos de la Facultad de Medicina).

Agradecimientos

Deseamos mostrar nuestro agradecimiento a la Agencia Española de Cooperación Internacional al Desarrollo (AECID) del Ministerio de Asuntos Exteriores, a través de diferentes proyectos (códigos: B/7560/07; D/017286/08; D/025825/09; B/023244/09; A1/040169/11).

Referencias

- [1] <http://seib.org.es> (Consultada: Septiembre 2017).
- [2] <https://www.ingenieriabiomedica.org/queesingenieriabiomedica> (Consultada: Septiembre 2017)
- [3] <http://www.ehu.es/es/web/ingenieriabiomedica/aurkezpena> (Consultada: Septiembre 2017)
- [4] <http://www.ehu.es/es/web/ingenieriabiomedica/titulua-renziurtapena-jarraipena-eta-egiaztapena> (Consultada: Sept.17)

Monitorización cardiovascular mediante técnicas de biofeedback para predicción de patologías cardíacas en adultos mayores

C. Castillo Olea¹, M.B. García-Zapirain Soto¹

¹ Grupo eVIDA, Universidad de Deusto, Bilbao, España, {cristian.castillo, mbgarciazapi } @deusto.es

Resumen

Este artículo se enfoca en el análisis de una herramienta informática diseñada para dispositivos móviles con Android. El objetivo es apoyar al médico especialista y al paciente en el seguimiento del tratamiento que está llevando de forma remota. La aplicación funciona en conjunto con un sensor de frecuencia cardíaca con capacidades de interconexión usando Bluetooth. El estudio se realizó con dos grupos de pacientes con cinco individuos cada uno. Los resultados obtenidos en la investigación son 450 datos registrados por cada paciente en el grupo 1 siendo el 100 % de los pacientes que utilizaron la aplicación, en el grupo 2 se registraron datos menores ya que solo el 40% de los pacientes utilizaron la aplicación. El comportamiento de la aplicación durante la monitorización fue el esperado, ya que cumplió con los requerimientos establecidos en el diseño del sistema; presentándose así como una alternativa para la monitorización de la variabilidad cardíaca a distancia, enfocada a pacientes con patología cardíaca y a usuarios que requieran estar en constante monitorización de su condición cardíaca.

1. Motivación

La cardiología ha sido una de las ramas de la medicina donde más se ha adelantado en los últimos años. La alta prevalencia de las patologías cardiovasculares y el que afecten sobre todo a poblaciones acomodadas ha conducido a un desarrollo constante de nuevas tecnologías para el diagnóstico y el tratamiento [1]. La patología cardiovascular con mayor prevalencia es la relacionada con la denominada enfermedad coronaria, aquella que puede acabar provocando la aparición de un infarto agudo de miocardio[2]. La tecnología de la que disponemos actualmente permite mejorar la comunicación entre los diferentes niveles asistenciales. En muchas ocasiones actúan varios profesionales sobre el mismo paciente, pero sin coordinación y sin colaboración. La tecnología puede cambiar esta situación. Una de las grandes esperanzas reside en las aplicaciones que el paciente puede llevar en su teléfono móvil [3]. Quizás en el rango actual de pacientes, con edades superiores a 70 años, parece muy complicado que se puedan beneficiar de las *apps*. Sin embargo, en los próximos años esta situación va a cambiar, puesto que se va a reforzar un idioma amigable y la facilidad de utilización de los dispositivos [4]. Ya existen tabletas de manejo fácil y, además, siempre hay cuidadores que pueden ayudar al paciente mayor con insuficiencia cardíaca. En esta

investigación se desarrolló una aplicación para dispositivos móviles enfocada a la monitorización de pacientes con afecciones de patología cardíaca. La herramienta informática apoya al médico especialista y al paciente para monitorización cardiovascular. En específico, la aplicación de este trabajo se enfoca a la monitorización de la frecuencia cardíaca del paciente para generar historial de comportamiento cardíaco y alertas en caso de que la salud del paciente se vea comprometida para así brindar una ayuda rápida y un tratamiento personalizado. Existen estudios en los que se aplican técnicas de Biofeedback para obtener una mejora significativa en el proceso de las enfermedades cardiovasculares [5,6]. A través de las terapias que hacen uso de las técnicas de Biofeedback como método para controlar las funciones fisiológicas, se puede tomar el control del pulso cardíaco haciendo que en algunos casos pueda mejorar la enfermedad, o en otros pacientes que no haya un empeoramiento lo que pueda conllevar a repetidos ingresos en los hospitales. Gracias a este tipo de terapia se ha encontrado una alternativa en la gestión de las enfermedades cardiovasculares.

2. Materiales y métodos

2.1. Participantes

La investigación se llevó a cabo con 10 participantes, el primer grupo de cinco pacientes con una historia clínica de falla cardíaca reciente en proceso de recuperación, mientras que el segundo grupo de participantes con un diagnóstico previo de hipertensión. El Objetivo es monitorear de forma inalámbrica la frecuencia cardíaca del paciente, generar alertas e informe clínico, lo cual permite conocer el estado del paciente de forma ubicua.

3. Diseño

Se desarrolló un algoritmo mediante la técnica de Biofeedback, donde el dispositivo móvil trabaja en conjunto con un sensor de frecuencia cardíaca con capacidades de interconexión usando la tecnología Bluetooth (ver figura 1). Las pruebas de la aplicación desarrollada se llevaron a cabo en 10 pacientes adultos mayores con patología cardíaca (ver figura 2)

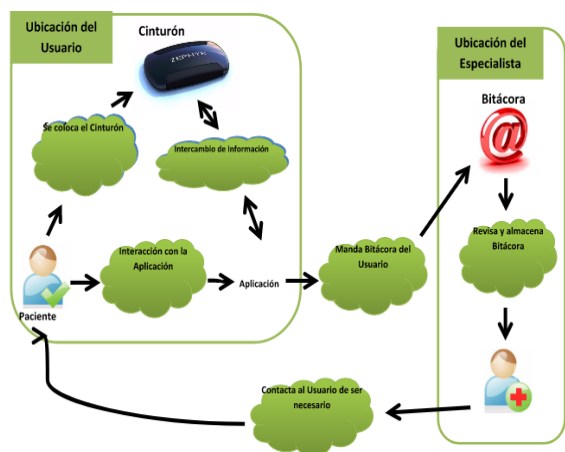


Figura 1. Funcionamiento general de la herramienta tecnológica

El usuario lleva a cabo dos actividades, la primera actividad es la colocación del cinturón y la segunda actividad es la interacción que lleva con la aplicación. Por parte del Especialista médico se lleva a cabo la revisión de la bitácora y en caso de ser necesario, el contacto con el usuario para agendar una cita en la clínica.

Respecto al sensor de monitorización, se tomaron en cuenta factores como: ergonomía, disponibilidad, precio accesible, adaptabilidad del sensor con diversos dispositivos móviles, así como un consumo moderado de energía [7]. Para la herramienta tecnológica se modeló el proceso que debía seguir por medio de gráficas y casos de uso, considerando aspectos principales que debía de realizar el sistema, como la de conectividad con el sensor de monitorización, almacenamiento de los datos recibidos, mostrar información de forma visual y el poder enviar los datos capturados al médico especialista [8,9]. Dando como resultado una aplicación de fácil uso que cumplió con los objetivos originalmente planteados. El sensor que se seleccionó fue el Zephyr HxM Bluetooth [10], la decisión se tomó con base a que cumplía con todas las características necesarias para la realización de la investigación y de menor costo.

3.1. Análisis y diseño

En la siguiente figura se puede apreciar que el usuario interactúa de cuatro formas con la aplicación [11] (ver figura 2):

1. Introducir información personal del paciente: Se llenan los campos de información personal del paciente y los datos de contacto del médico especialista (esto se realiza solo una vez).
2. Realizar conexión con el cinturón: Esto es para que puedan estar en comunicación y así la aplicación capture los datos enviados por el sensor en el cinturón.
3. Enviar la información: El usuario envía los datos capturados por la aplicación al médico especialista.

4. Borrar los datos: Una vez enviados los datos, estos deben de ser borrados para que no se mezclen con los capturados en la monitorización posterior.

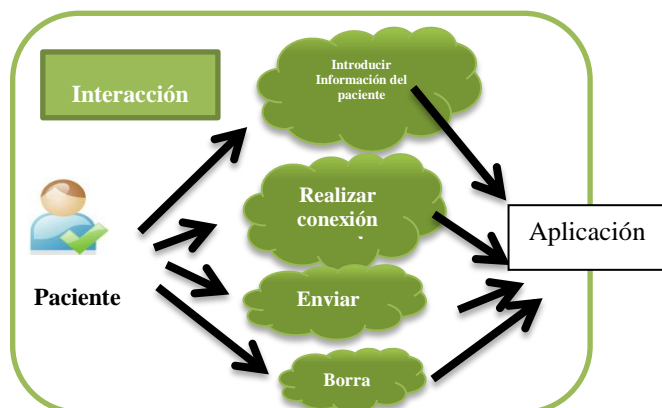


Figura 2. Interacción paciente- Herramienta tecnológica

3.2. Monitorización de frecuencia cardíaca

Se refiere al uso de la aplicación para monitorizar la frecuencia cardíaca del usuario y enviar la bitácora al médico especialista (ver figura 3) [12].

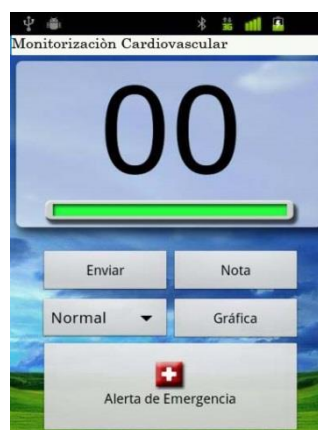


Figura 3. Pantalla Monitorización Cardiovascular

Los pasos que se deben seguir para usar la aplicación se describen a continuación: Colocar Cinturón Zephyr [13]; El usuario debe de colocarse el cinturón a la altura del corazón; Realizar conexión Aplicación – Cinturón; El usuario debe de buscar el cinturón por medio de la aplicación y realizar la conexión; Usar Cinturón el tiempo necesario: El usuario deberá de usar el cinturón el tiempo que le haya requerido el especialista. El usuario podrá realizar sus actividades cotidianas en el tiempo que dure la monitorización; Remover Cinturón Zephyr: Una vez realizado la monitorización el usuario deberá remover el cinturón.

3.3 Enviar bitácora al médico especialista

Se refiere al envío de la bitácora al médico especialista: Enviar Bitácora: El usuario debe presionar el botón “Enviar”, al hacer esto, la bitácora generada por la monitorización será enviada al médico especialista;

Borrar Bitácora: El usuario debe de presionar el botón de “Menú” y seleccionar la opción de “Ajustes”. Una vez en pantalla, presionar el botón “Borrar”.

4. Resultados

La herramienta informática muestra la información capturada en el gráfico de monitorización (ver figura 4).



Figura 4. Gráfica de monitorización

Para una mayor comprensión de la gráfica presentada, en el eje Y, se encuentra el ritmo cardíaco registrado por la herramienta informática mientras que en el eje X se encuentra el número de pulso. Se realiza una organización de los datos recolectados por fecha y por tipo de monitorización (matutino y vespertino), así como sus respectivas graficas; posteriormente se realiza el análisis para corroborar que el sistema funcionó correctamente o si presentó alguna anomalía. Esto, para que la lectura de los datos fuera legible para la persona designada a llevar a cabo el análisis del experimento de monitorización. Es importante destacar que cada una de las gráficas representa un número máximo de 450 datos y no un lapso de tiempo, por lo tanto el número de gráficas es directamente proporcional al número de datos registrados por el sensor de monitorización. La presentación de la información en forma de gráficas facilitó la lectura de los datos, haciendo visibles los picos de actividad de cada participante así como su variabilidad cardíaca. Esto ayuda a saber si la persona monitoreada se encuentra realizando actividades posiblemente perjudiciales para su condición. A continuación se presenta los datos de los grupos de los pacientes:

Número de pacientes	de 5
Tiempo de monitorización	de 6 días
Medicamentos utilizados	Pacientes con falla cardiovascular reciente, tomando el siguiente medicamento:
	<ul style="list-style-type: none"> • Plavix 75mg • BiEglucon M 500mg – 2.5mg • Lanoxin .25mg • Lipitor 80mg • Dilactrend 25mg • Aspirina 25mg

Tabla 1. Estudio grupo 1

En el grupo 1 se obtuvo una mayor cantidad de datos por minuto registrados debido a la condición de proceso de recuperación y el apoyo de la diversidad de dispositivos móviles por parte de los pacientes. Toda información

enviada por parte de los participantes utilizando la aplicación, fue recibida correctamente. No se presentó ninguna alerta por parte de los usuarios ya que al no haber incidentes, no fue necesario.

Número de pacientes	de 5
Tiempo de monitorización	de 6 días
Medicamentos utilizados	Pacientes con diagnóstico definitivo de hipertensión:
	<ul style="list-style-type: none"> • Captopril 25 mg • Nifedipina 30 mg • Aspirina 25mg

Tabla 1. Estudio grupo 2

En el grupo 2 se obtuvieron una menor cantidad de datos por minuto registrados debido a que 2 de los pacientes no cargaban el dispositivo móvil para realizar la monitorización, es decir el 40 %. Toda información enviada por parte de los participantes utilizando la aplicación, fue recibida correctamente. No se presentó ninguna alerta por parte de los usuarios ya que al no haber incidentes, no fue necesario.

5. Conclusiones

En el mercado actual existen otras aplicaciones similares, sin embargo, la contribución de esta investigación se basó en el diseño de la aplicación, ya que fue desarrollada pensando en la transparencia de la interacción con el usuario así como su facilidad de uso, además de que la información que se envía al especialista lleva consigo datos que le son de importancia para llevar una monitorización a distancia con información más completa. La herramienta tecnológica es eficaz y eficiente para la monitorización de pacientes, accesible en costos por el sensor utilizado.

La aplicación lleva a cabo la monitorización de frecuencia cardíaca, esto se debe a la capacidad del sensor utilizado; sin embargo existen otros sensores en el mercado capaces de monitorear el trazo cardíaco, el cual sería de utilidad para llevar a cabo una monitorización más completa de los pacientes. En cuanto a las pruebas realizadas, el número de pacientes puede aumentar con el propósito de obtener una gama de estadísticas amplia que permita validar de una forma más rigurosa los resultados.

Referencias

- [1]. Arriola H, Reyna C., Evaluación de riesgo de muerte súbita cardíaca mediante un sistema neurodifuso. Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica. 2009;30(1):25-32.
- [2]. Instituto Nacional de estadística Geografía. Estadística a propósito del día mundial del corazón. Instituto Nacional de estadística Geografía; 2012.

- [3]. Mobile e-health monitoring: an agent-based approach. *IET Communications*. 2008;2(2):223-30.
- [4]. Allan, R. Medical Devices Get Ready to Make House Calls. *Electronic Design*. 2010;58(2):33.
- [5]. Kranitz L., Lehrer, P. Biofeedback applications in the treatment of cardiovascular diseases. *Cardiology in review*. 12(3):177-81.
- [6]. Nolan R, Kamath M, Floras J, Stanley J, Pang C., Young Q. Heart rate variability biofeedback as a behavioral neurocardiac intervention to enhance vagal heart rate control. *American heart journal*. 149(6):1137-e1.
- [7]. Free C, Phillips G, Galli L, Patel V., Edwards P. The effectiveness of M-health technologies for improving health and health services: a systematic review protocol. *BMC Research Notes*. 2010;2(25):250-6.
- [8]. Serena. An introduction to agile software development. *Serena*. 2007.
- [9]. Koole, M. L. A model for framing mobile learning. *Mobile learning: Transforming the delivery of education and training*. 2009;25-47.
- [10]. Gupta S, Desai K, Gaikawad D, Pawar V., Gangal D. Mobile based Appliances switching using Bluetooth. *AIP Conference Proceedings*. 2008;1(1004):146-51.
- [11]. Hintermeister G. Design a Mobile user Experience. *System iNEWS*. 2010;365:25-33.
- [12]. Terbizan D., Dolezal B. Validity of Seven Commercially Available Heart Rate Monitors. *Measurement in Physical Education & Exercise Science*. 2002;6(4):243-7.
- [13]. Zephyr. BioHarness BT Data Sheet [Internet]. 2010. Disponible en: <https://www.zephyranywhere.com/resources/hxm>

Multiscale Entropy and Multiscale Time Irreversibility for Atrial Fibrillation and Heart Failure from 7-Day Holter

M. El-Yaagoubi^{1,2}, R. Goya-Esteban¹, Y. Jabrane², S. Muñoz-Romero^{1,3},
J.L. Rojo-Álvarez^{1,3}, A. García-Alberola⁴

¹Department of Signal Theory and Communications, Telematics and Computing Systems, Rey Juan Carlos University, Madrid, Spain, {m.elyaagoubi, rebecca.goya, sergio.munoz, joseluis.rojo}@urjc.es

²GECOS Lab, ENSA, Cadi Ayyad University, Marrakech, Morocco, y.jabrane@uca.ac.ma

³Center for Computational Simulation, Universidad Politécnica de Madrid, Spain

⁴Hospital Clínico Universitario Virgen de la Arrixaca de Murcia, Murcia, España, arcadi@secardiologia.es

Abstract

To prevent the sudden death risk, several methods have been proposed in the literature based on Heart Rate Variability (HRV), which is related with the state of the autonomic nervous system. To quantify the HRV, the measurement of the irregularity based on Entropy methods, Multiscale Entropy (MSE), and Multiscale Time Irreversibility (MTI) have been proposed. In contrast to traditional irregularity measures, these methods take into account the multiple time scales inherent in healthy physiologic dynamics. Higher entropy values generally account for healthier states than for some pathologies, with the hypothesis that decreasing entropy points to perturbations of the complex physiological mechanisms. To date, the MSE and MTI have been analyzed for monitoring of a maximum of 24 hours, and a limit of 20 scales. In this work, MSE and MTI are applied to 7-days monitoring analysis of two data sets, namely, 3 patients with Atrial Fibrillation and 3 patients with Heart Failure, by increasing the number of scales up to 100, thanks to the long-term duration of the holter recordings. Our results show that the larger scales available in long-term monitoring contain relevant information about the patient's condition, which changes according to the pathology and the patient. These results paves the way to scrutinize these techniques in more detail for their use in long-term cardiac monitoring scenarios.

1. Introduction

Sudden cardiac death is one of the leading causes of mortality in the world, as confirmed by World Health Organization (WHO), due to unrecognized congenital cardiovascular disease. In this context, an anticipated diagnosis may help to reduce the cardiac mortality rate. The rhythm of the heart depends on both the sympathetic and the parasympathetic branches of the Autonomic Nervous System (ANS). Heart Rate Variability (HRV) is one of the main markers to study the relationship between the ANS and cardiovascular diseases, and it is defined as the variation in the time intervals between consecutive heart beats that occurs in the heart as a consequence of a complex internal dynamic balance.

HRV has aroused increasing interests as a non-invasive diagnostic method for different cardiovascular pathologies. Part of its interests lies in its non-invasive nature and in the study of HRV only needing to know the time instants of occurrence of the beats. The heart does not behave like a periodic oscillator, instead, its rhythm is modulated by the ANS. The simultaneous actuation of the two ANS branches causes oscillations of the cardiac frequency, giving rise to the presence of HRV. The main reasons for the use of HRV as maker of cardiac risk are its description capacity as irregularity measurement, and its potential value for prognosis and diagnosis of several cardiovascular diseases [1].

There are several procedures which can provide us with HRV indices in the literature, and among them, nonlinear methods extract relevant information from HRV signals in terms of their complexity. Nonlinear indices are based on the fact that fluctuations in the *RR* intervals can exhibit characteristics from complex dynamic systems. With this hypothesis, and roughly speaking, healthy states will correspond to more complex patterns than pathological states. However, some pathologies, are associated with highly erratic fluctuations with statistical properties resembling uncorrelated noise. Traditional algorithms could yield higher irregularity indices for such pathological signals when compared to healthy dynamics, even though the latter represent more physiologically complex states. This possible inconsistency may be due to the fact that traditional algorithms are based on single scale analysis, and they could not take into account the complex temporal fluctuations inherent to healthy physiologic control systems. It is usual that studies based on 1-day Holter (1-DH) monitoring conclude that relevant information could be obtained from longer duration recordings, however, few studies have scrutinized nonlinear indices in long-term holter monitoring, despite its current and increasing availability in the clinical practice.

In this paper, Multiscale Entropy (MSE) and Multiscale Time Irreversibility (MTI) methods have been used to study

and analyse the nature of the HRV signal, by using 7-day Holter (7-DH) recordings, hence scrutinizing the possibilities of these relevant nonlinear measurements when using larger scales than the usual ones until now.

The structure of the paper is as follows. First, the 7-DH recordings in Heart Failure (HF) and Atrial Fibrillation (AF) patients and the HRV nonlinear methods are presented. Next, the data analysis is described, and following, the results are presented. Finally, conclusions are summarized.

2. ECG data base

In our study, we used 7-DH measured on patients having stable HF (3 and 3 patients with diagnostics HF and AF respectively). Those patients had left ventricular ejection fraction $\leq 50\%$ and were clinically stable. The device (Lifecard CFTM, Del Mar Reynolds, Issaquah, Washington) was exploited to extract the 3-channel Electrocardiographic recordings with x-y-z orthogonal leads. Then, the raw electrocardiographic data were stored respecting proprietary format, and exported to the International Society for Holter and Noninvasive Electrocardiology Standard (ISHNE) by using custom-made software, accordly to the standard specifications. The standard Holter analysis software (ELA Medical™, Sorin Group, Paris, France) was used to process the data. It is worth noting that when needed, a trained cardiologist performed a visual check of the QRS complex classification and every arrhythmic event. Therefore, manual corrections were made. Recordings were pre-processed to exclude artifacts and ectopic beats. Moreover, *RR* intervals lower than 200 ms and greater than 2000 ms were eliminated, as well as those which differed more than 20% from the previous and the subsequent *RR* intervals. All the recordings had at least 85% of sinus beats. The nonlinear indices were computed on the *RR* interval series.

3. MSE and MTI Algorithms for HRV

There are different techniques for HRV analysis, which are often structured in families (such as temporal, spectral, geometrical or nonlinear methods), giving rise to a large number of proposed algorithms. As we mentioned, we focused on the nonlinear MSE and MTI algorithms for HRV analysis, because they have shown interesting descriptive properties on 1-DH recordings on several pathologies.

3.1. MSE Analysis

The Sample Entropy (*SampEn*) was introduced by J.S Richmann and J.R Moorman [6] to solve the limitations of the Approximate Entropy (*ApEn*) [5], since the *ApEn* compares each series pattern with itself, which leads to the error that is the existence of similarity in series, therefore the results are not very consistent. *SampEn* is the negative of the natural logarithm of the conditional probability that two similar patterns of m points remain similar if we increase the number of points to $m + 1$.

The MSE was introduced by Madalena Costa [2, 3] to solve the problems that *ApEn* and *SampEn* could not solve,

using a new concept which is the multiscale analysis. For a discrete time series, a new series is constructed, whose terms are the average of the consecutive elements of the original series without overlapping. In this way, for a time series with 1 scale corresponds to the original series, for 2 scales, the series will be formed by the average of the elements taken from two by two, and so on. Finally we calculate the *SampEn* for each one of the new generated series. We represent the values obtained versus the scale factor, we can note the dependence of the entropy with the time scale. The maximum value of the scale depends on the number of samples in the time series. According to previous studies [3], this maximum was 20 when working with 24-hour Holter, which involves series with length greater than 20.000 signal samples. The MSE requires four input parameters: rr (signal from which the MSE is to be estimated), τ (number of scales for the analysis), r (noise filter) and m (length of the vectors to be compared). Consequently, MSE is denoted here as $MSE(rr, \tau, r, m)$. Given the discrete time series $x_1, \dots, x_i, \dots, x_N$, we obtain the consecutive time series y^τ , determined by the scaling factor τ as follows:

- First, the original time series is divided into non-overlapping intervals with window size of the same length as τ . Then the mean is obtained for each of the sample windows.
- Each element of the series y^τ is calculated according to the equation:

$$y^\tau = \frac{1}{\tau} \sum_{i=(j-1)\tau+1}^{j\tau} x_i \quad 1 \leq j \leq \frac{N}{\tau} \quad (1)$$

For the first scale, the time series y^1 is the original time series. The length of each time series obtained is equal to the length of the original series divided by the scale factor τ .

- To normalize, the entropy index is calculated for each time series, representing it as a scale factor τ function.

3.2. MTI Analysis

The consistency loss of the statistical properties of a signal is measured by MTI when the signal reading undergoes a change through time inversion, which allows us to obtain and quantify an asymmetry index [3]. This asymmetry index is higher in healthy systems (with more complex dynamics) and it decreases in syndromic systems with pathologies and with aging. On the other hand, physiological time series generate complex fluctuations in multiple depending time scales, just as the existence of different hierarchical and interrelated regulatory systems. Therefore, it is important that the measure of irreversibility respects this multiple scale inherent in the body systems, which gives rise to the so-called MTI. Recent studies attempted to demonstrate that the loss of self-organization of a living organism is clearly related to a pathology or aging, and hence, to the loss of temporal irreversibility [4].

Considering the time series $X = x_i$, for $1 \leq i \leq N$:

- For the first scale, the time series are:

$$Y = y_1, \quad y_i = x_{i+1} - x_i, \quad 1 \leq i \leq N - 1 \quad (2)$$

- Then we calculate the difference A_1 as follows:

$$A_1 = \frac{\sum_{i=1}^{N-j} H[-yi] - \sum_{i=1}^{N-j} H[yi]}{N - 1} \quad (3)$$

where H is the Heaviside function that can be expressed as:

$$H(a) = \begin{cases} 0 & \text{if } a < 0 \\ 1 & \text{if } a \geq 0 \end{cases} \quad 1 \leq i \leq N - 1 \quad (4)$$

- For the j^{th} scale, the time series are:

$$Y = y_j, \quad y_i = x_{i+j} - x_i, \quad 1 \leq i \leq N - j \quad (5)$$

- Then, the difference A_j is calculated by:

$$A_j = \frac{\sum_{i=1}^{N-j} H[-yi] - \sum_{i=1}^{N-j} H[yi]}{N - j}, \quad 1 \leq i \leq N - j \quad (6)$$

- The asymmetry index (irreversibility) is obtained as:

$$\sum_{j=1}^J A_j \quad (7)$$

for a pre-determined range of scales.

4. Experiments and Results

4.1. MSE Results

In this subsection, we analyze the MSE results of 7 days registers of AF and HF patients. We also analyse how, the results can vary from a patient to another when increasing the scaling factor, although they have the same type of pathology.

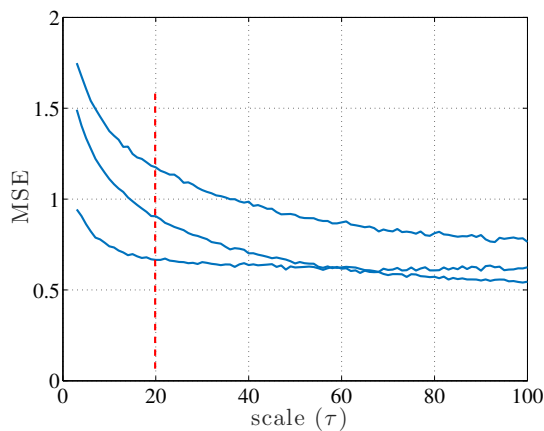


Figure 1. Obtained MSE up to 100 scales in 3 patients with AF. Vertical line denotes the scale for which MSE is obtained with 1-DH recordings in precedent studies.

Figure 1 shows decreasing values of MSE for 3 patients with AF up to a maximum of 100 scales. We can note that

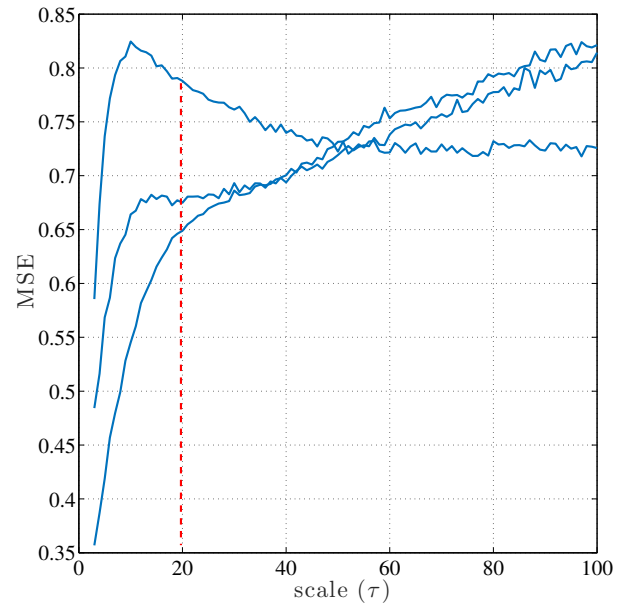


Figure 2. Obtained MSE up to 100 scales in 3 patients with HF. Vertical line denotes the scale for which MSE is obtained with 1-DH recordings in precedent studies.

the trend of the curve change for increasing scales. Previous studies based on 1-DH recordings have analyzed up to scale 20 (red dashed line) [2, 3], however, changes in the dynamics of some patients can be observed in larger scales. Also the relative entropy values between patients change with the scale, for example, Fig. 1 shows that from scale 60 approximately the relation between the entropy values of two AF patients is reverted. We can also see that the exponential-like decrease seems to be present in the three patients, however, in two of them there is a trend to continue decreasing even after the 100 scales, whereas one of them reaches a practically constant entropy over 40 scales.

Figure 2 shows the MSE estimated up to 100 scales in 3 patients with HF. It can be seen that the complexity is different in both patients for lower scales, and if we only observed them, even it could seem that they reach a continuous high level. However, the analysis on larger scales shows that the complexity continues to grow almost linearly, and that all the patients exhibit a very similar behavior on that range of large scales.

4.2. MTI Results

In this subsection, we analyze the MTI results on the same patients with AF and HF. From Figure 3, where the MTI is represented for 3 patients with AF, a decreasing trend is clearly seen with increasing scales in two patients, whereas a positive drift is seen in one patient. In general, the trend can be clearly established when looking at the larger scales, whereas the observation from a single day Holter would have been less well-defined in terms of its exponential-like shape. A similar kind of trend can be seen in patients with HF in Figure 4, however, the MTI curves for these patients with HF exhibit a larger magnitude compared with the MTI curves for patients with AF, except in one patient, where

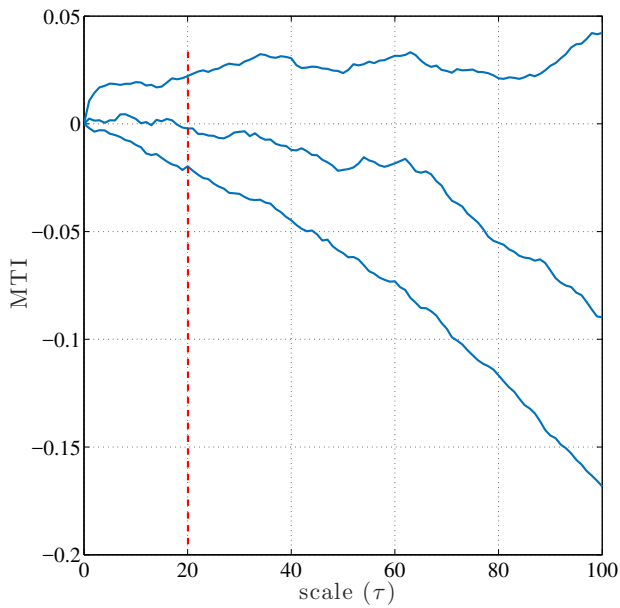


Figure 3. Obtained MTI up to 100 scales in 3 patients with AF. Vertical line denotes the scale for which MSE is obtained with 1-DH recordings in precedent studies.

again a near constant trend is obtained throughout scales.

5. Conclusion

In this work, we have addressed the calculation of two representative multiscale indices, namely, MSE and MTI, on 7-DH recordings. We have worked on 3 examples of AF patients and on 3 examples of HF patients. From these results, it turns evident that, when present, the trends are consistent between the scales provided with 1-DH and the additional scales provided with the 7-DH, but the second ones give a deeper view of this kind of representations. Changes in the dynamics of some patients can be observed in large scales. Also the relative entropy values between patients change with the scale. Note that these results are consistent with the MSE in terms of HF showing larger complexity in general for large scales than AF.

Our future research will consider first to perform the same multiscale analysis (MSE and MTI) in healthy subjects, in order to study the dynamic behavior in normal conditions when increasing the scales number. Then, an individual study of each patient will be made, to determine if there are correlations between the MSE and MTI values obtained. Certainly a larger database for AF and for HF will be informative, and finally, the clinical variables provided by the health recording for each patient will surely be informative when understanding the different behavior observed in this work for some patients.

Acknowledgments

This work was partly supported by Research Grants PRIN-CIPIAS, FINALE, and KERMES (TEC2013-48439-C4-1-R, TEC2016-75161-C2-1-R, and TEC2016-81900-REDT) from Spanish Government. Thanks to Ibrahim Muñoz for

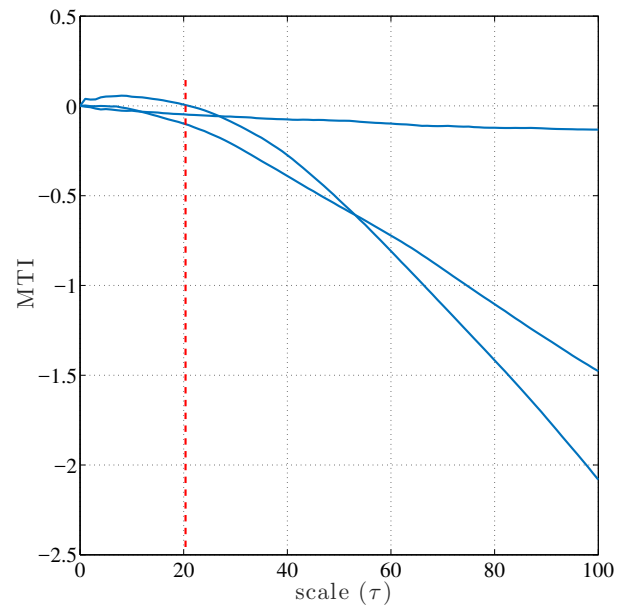


Figure 4. Obtained MTI up to 100 scales in 3 patients with HF. Vertical line denotes the scale for which MSE is obtained with 1-DH recordings in precedent studies.

his contribution with the preliminary analysis with HF and AF databases.

References

- [1] M. Malik; T. Cripps; T. Farrell and A. Camm. Prognostic value of heart rate variability after myocardial infarction. a comparison of different dataprocessing methods. *MBEC*, 27(6):603611, 1989.
- [2] M. Costa; A.L. Goldberger and C.K. Peng. Multiscale entropy analysis of complex physiologic time series. *The American Physical Society*, 89(6):068102, 2002.
- [3] M. Costa; A.L. Goldberger and C.K. Peng. Broken asymmetry of the human heartbeat: loss of time irreversibility in aging and disease. *The American Physical Society*, 95(4):198102, 2005.
- [4] M. Costa; C.K. Peng; A.L. Goldberger. Multiscale analysis of heart rate dynamics: Entropy and time irreversibility measures. *Cardiovasc. Eng.*, 8:88, 2008.
- [5] S. M. Pincus and Ary L. Goldberger. Physiological time-series analysis: what does regularity quantify? *The American Physiological Society*, 35:1643–1656, 1994.
- [6] J. S. Richman and J. R. Moorman. Physiological time-series analysis using approximate entropy and sample entropy. *Heart Circulatory Physiology*, 278:2039–2049, 2000.

App Móvil en iOS para el Autocontrol y Educación de Pacientes con Problemas del Corazón

S. Pardal Higuera¹, I. De la Torre Díez¹, M. López-Coronado¹, J. Herreros González²

¹ Departamento, de Teoría de la Señal, Comunicaciones e Ing. Telemática. Universidad de Valladolid, Valladolid, España, s.pardal.higuera@gmail.com, {isator, miglop}@tel.uva.es}

² Clínica Nisa, Madrid, España, jesus.herreros@gmail.com

Resumen

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de mortalidad y discapacidad en los países desarrollados. En el campo de la tecnología, existe un alto nivel de integración de los dispositivos móviles en nuestra sociedad. En este contexto, surge la necesidad de aprovechar las oportunidades que nos ofrece la tecnología para mejorar la calidad de vida de los pacientes. En este artículo se muestra el desarrollo y funcionamiento de una app móvil denominada “Cuida tu corazón”, diseñada para funcionar en dispositivos con sistema operativo iOS. “Cuida tu corazón” pretende ayudar a personas con problemas del corazón, informándoles sobre diferentes aspectos de su enfermedad, llevando un registro de medicamentos, registrando la realización de diferentes actividades y calculando el riesgo de sufrir un accidente cardiovascular.

1. Introducción

Recientes estudios sobre el uso de dispositivos móviles, realizados por distintos organismos y plataformas a nivel nacional e internacional, nos conducen hacia la misma conclusión: el uso de los mismos entre la población se ha incrementado en los últimos años de una forma muy importante, y son cada vez más comunes en nuestras vidas [1-3]. Y con ello, no sólo crece el número de terminales, sino que también se eleva el número de aplicaciones para los mismos y de personas dedicadas al desarrollo de las mismas, con el objetivo de ofrecer nuevos servicios a los usuarios.

Cada fabricante de móviles decide qué sistema operativo desea implantar en sus dispositivos. Por esta razón, los desarrolladores de aplicaciones para móviles deben tener en cuenta cuales son los sistemas operativos más utilizados, para realizar un correcto estudio de mercado de su aplicación. Según el servicio de estadísticas NetMarketShare, la cuota de mercado de sistemas operativos móviles a principios de 2017 es para Android del 66,71 %, para iOS del 29,55 %, 1,41 % para Windows Phone y 0,37 % para BlackBerry.

Las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de muerte y discapacidad en Estados Unidos y de la mayoría de países europeos, entre ellos España [4]. Un amplio estudio histórico (PDAY) indica que los daños vasculares se acumulan desde la adolescencia haciendo los esfuerzos primarios necesarios desde la niñez. Un estudio reciente, determinó que en 2011 murieron más de

17 millones de personas en el mundo a causas de enfermedades cardiovasculares [4-5].

En este artículo se muestra el diseño y funcionamiento de la app “Cuida tu corazón” desarrollada para el sistema operativo iOS, cuya finalidad es ayudar a los pacientes de enfermedades cardiovasculares a controlar, aconsejar y mejorar su calidad de vida, tener más información sobre las causas y llevar a cabo una serie de directrices para mejorar su corazón con una serie de consejos y actividades.

2. Metodología

En esta sección se explicará el diseño de la app “Cuida tu corazón”, se explicarán las partes de las que consta, la arquitectura de la misma y los requisitos de diseño.

2.1. Diseño de la app “Cuida tu corazón”

Las herramientas software empleadas en el desarrollo de “Cuida tu corazón” son las que siguen: XCode8, GIMP, MAMP, TextWrangler, Prepo, Lenguaje Swift 3, PHP and Advanced REST client – Chrome. En el diseño de la aplicación se tienen en cuenta las partes de las que consta:

- Gestión de usuarios. Al acceder a la aplicación el usuario deberá registrarse para que esté identificado en el servidor, a través del id que se le adjudica en este registro el usuario luego es indexado en las diferentes actividades y medicamentos.
- Comprobar y gestionar mi calendario. En la página principal se mostrarán distintos iconos identificativos para acceder al resto de módulos. Lo que destaca en esta vista principal es el calendario, en donde el usuario verá reflejadas las tomas de medicamentos y los registros de actividades de forma sencilla.
- Registro de Actividades. En este módulo, el usuario podrá introducir diferentes actividades relacionadas con su enfermedad. Para cada una de ellas, además, se mostrarán diferentes vistas que permitan seleccionar: rehabilitación, actividad física, analítica de sangre, presión sanguínea, ataque/crisis, glucosa, exceso.
- Registro de Medicamentos. En este módulo se mostrarán las dosis de medicamentos que un usuario está tomando durante un periodo determinado.

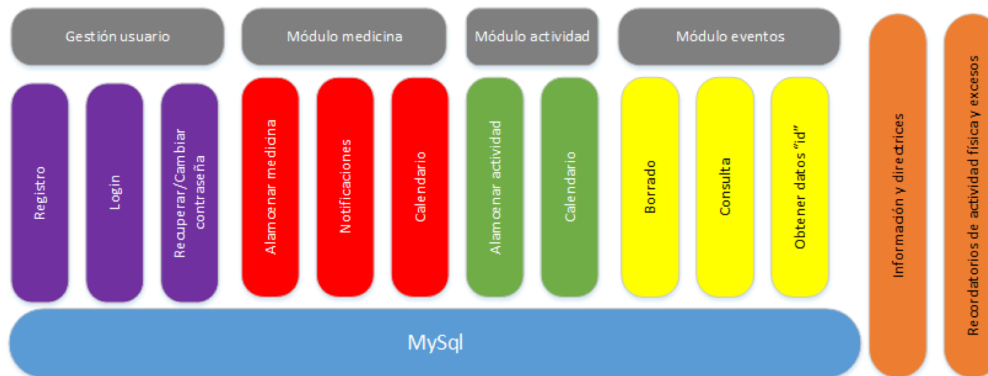


Figura 1. Arquitectura en bloques de la app

- Notificaciones y aviso de toma. La aplicación deberá avisar al usuario cada vez que sea la hora de realizar una toma. El usuario podrá marcar las notificaciones diarias, en un día en concreto o durante una semana.
- Directrices sobre actividades y medicamentos. En este módulo se mostrarán guías y directrices relacionadas con la cardiología y enfermedades cardiovasculares. Las opciones seleccionables de este módulo serán: general, corazón y deporte, embarazo, cardiopatía isquémica, hipertensión, diabetes, enfermedad valvular y fibrilación auricular.
- Contacto de emergencia. Aquí se muestran las diferentes formas de contacto con la persona que se quiera, una vez escrita se mantiene en el dispositivo para mandar un mensaje, un Whatsapp o un mail.
- Recomendaciones de actividad física y excesos. Cuando el usuario no tiene seleccionado unas actividades físicas en los próximos 5 días la app le avisa de este hecho al poco del cierre la aplicación, animando al usuario a que haga deporte para mejorar su salud.

La arquitectura de “Cuida tu corazón” se puede ver en el modelo de capas de la Figura 1.

2.2. Requisitos de la app

“Cuida tu corazón” también tiene unos requisitos mínimos (Tabla 1) que debe cumplir el dispositivo en el que se ejecuta. Dichos requisitos son seleccionados a la hora de establecer el sistema operativo mínimo de uso, esto se basa en relación a requisitos a nivel técnico, o bien por decisiones tomadas durante la fase de desarrollo del software, requisitos más orientados hacia la funcionalidad y apariencia de la aplicación. “Cuida tu corazón” es una aplicación desarrollada de forma nativa para iOS, por lo que el principal requisito es que el dispositivo disponga de un sistema operativo iOS.

El desarrollo de la aplicación tiene las imágenes configuradas para dispositivos móviles, desde iPhone SE hasta iPhone 7 Plus, se podría ejecutar en iPad pero la resolución máxima que aplica es la de un iPhone 7 plus con lo que se vería la pantalla con bordes negros, adaptando esta resolución. La versión mínima es el sistema 9.3.

Dispositivo	Móvil
Sistema operativo	iOS de Apple
Versión de sistema operativo	de iOS 9.3
Espacio libre en almacenamiento interno	30.7 MB
CPU y memoria	Cualquier móvil que soporte iOS 9.3 y superior podrá usar la aplicación
Aceptación de permisos	No son necesarios pero hay permisos de notificaciones locales y en caso de querer compartir por WhatsApp de usar esta aplicación a través de “Cuida tu corazón”

Tabla 1. Resumen de requisitos

El tamaño de la aplicación es de 30 Mb y el resto de datos que puede almacenar la aplicación son solo textos, con lo que el consumo durante su uso no aumentará mucho en relación a estos megas. Respecto a la CPU y la memoria RAM del dispositivo podrán perfectamente con “Cuida tu corazón” y no se verán ralentizados ya que no posee una carga computacional más allá de transiciones, imágenes y lógica sencilla. “Cuida tu corazón” podría enviar alguna notificación en relación a los eventos que tiene el usuario almacenados. El otro permiso que solicita la aplicación es cuando vamos a mandar un WhatsApp de ayuda desde “Cuida tu corazón”, este se realizará previa autorización de su uso.

3. Resultados

3.1. App móvil “Cuida tu corazón”

La app “Cuida tu corazón” está dirigida principalmente para pacientes que tienen algún tipo de problema cardiaco, como cardiopatías, etc. Al acceder a la app, aparece el panel de registro, en caso de que el usuario se haya introducido previamente en la aplicación sin cerrar la sesión al final, aparecerá la pantalla principal con el calendario y los datos del usuario (ver Figura 2).



Figura 2. Pantalla de registro “Cuida tu corazón”

En la página principal se mostrarán distintos iconos identificativos para acceder al resto de módulos. Lo que destaca en esta vista principal es el calendario, en donde el usuario verá reflejadas las tomas de medicamentos y los registros de actividades de forma sencilla. Cuando presionamos en el botón con el icono de la ficha, entramos en la sección de actividades, donde con sus diferentes parámetros según sean, añadimos una actividad que será marcada con verde sobre nuestro calendario. En cuanto a las notificaciones y aviso de toma, la aplicación avisará al usuario cada vez que sea la hora de realizar una toma. El usuario podrá marcar las notificaciones diarias, en un día en concreto o durante una semana. Si se borra el evento de esa medicina se borrarán las notificaciones. Estas notificaciones son locales con lo que a la hora que se inserten o se elijan saltarán puntualmente en el dispositivo en el que se realizó esta acción y siempre que se tengan activadas las notificaciones. Los botones del corazón y de la enfermera del panel principal son los que dan información y directrices para los usuarios (por ejemplo en la Figura 3 se muestra información de interés sobre cardiopatía isquémica). Si el usuario tiene cualquier problema y quiere ponerse en contacto con alguien que haya escrito una vez en su contacto de emergencia, lo puede hacer de diferentes formas, tiene estas opciones de mensajería (como whatsapp, SMS). Esto se puede ver en las Figuras 4(a) y 4(b). Cuando el usuario no seleccione unas actividades físicas en los próximos 5 días la app le avisa de este hecho al poco del cierre la aplicación, animando al usuario a que haga deporte para mejorar su salud. El usuario recibirá a los 30 segundos una notificación. Del mismo modo que si el usuario ha tenido una serie de excesos días previos al actuar la aplicación le avisa sobre estos malos hábitos. En este caso tenemos dos días seguidos con exceso y tras cerrar la aplicación, a los 30 segundos (véanse Figuras 5(a) y (b)).

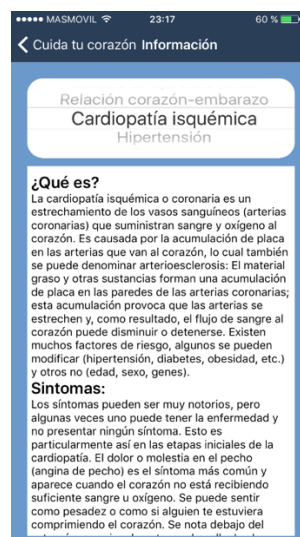


Figura 3. Información de cardiopatía isquémica

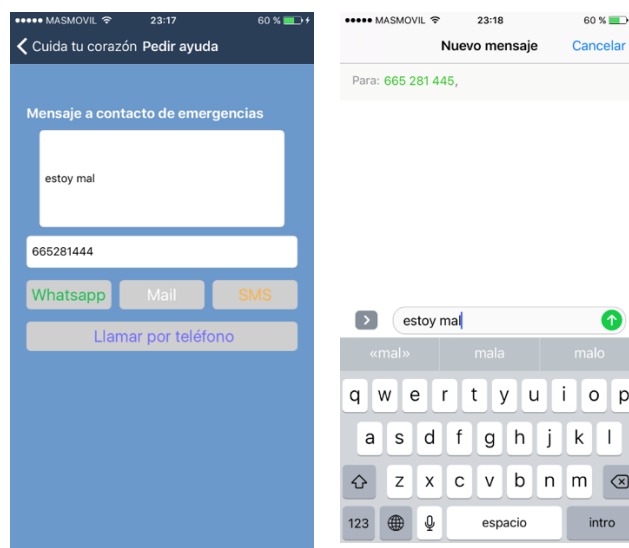


Figura 4. Petición de ayuda por Whatsapp (a) y por SMS (b)

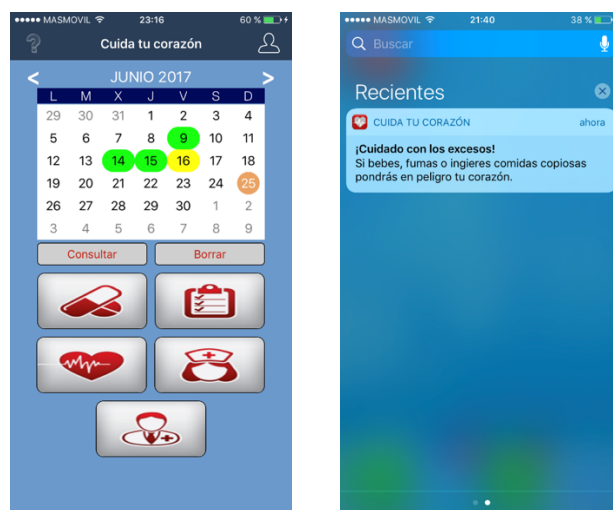


Figura 5. Calendario con excesos (a) y notificaciones (b)

4. Conclusiones

“Cuida tu corazón” es una app móvil que tiene la base para cualquier aplicación de telemedicina, ofreciendo una gran información al personal médico sobre sus pacientes, conociendo el estilo de vida de éstos, que suele ser la base de los problemas cardíacos junto con los hereditarios. Esta app móvil, además de tener una interfaz sencilla, hace que personas de avanzada edad la puedan usar y con las notificaciones no se olviden de las tomas de sus medicamentos. Cuenta con una amplia información para el usuario, ya que, con la información de enfermedades, las directrices básicas y las notificaciones sobre la falta de actividades físicas y los excesos, hacen que el usuario sea consciente de los peligros a los que se expone ignorándolas. En ese caso, si hubiera algún problema podría utilizar los contactos de emergencia a los que se podría añadir la localización por si la situación del paciente es grave. Con ayuda de personal médico y un poco de inversión en este tipo de proyectos, la sociedad se podría beneficiar de este tipo de aplicaciones para mantener un mejor estilo de vida, ya que en la actualidad mucha gente tiene herramientas en sus casas para mantener al día la información que esta aplicación tiene.

En cuanto a las líneas futuras a realizar, primero pasa por publicar en un servidor el servicio web y configurar el “end point” de “Cuida tu corazón” hacía ese servidor, para que pueda ser publicada en el Apple Store. A la aplicación se le pueden añadir varias mejoras, tales como la localización para las emergencias, ya que puede resultar útil en caso de emergencia grave, también se pueden animar las notificaciones, ofrecer más opciones de control para el usuario.

Como dispondremos de los datos del usuario, se puede realizar un panel de administración para que los médicos puedan llevar el control de sus pacientes, conociendo de forma rápida y diaria las actividades y medicamentos que

toman sus pacientes. En la actualidad se está probando la app con pacientes de la Clínica Nisa en Madrid.

En el aspecto de “big data”, “Cuida tu corazón” va a tener almacenada la información de varios con lo que sería útil analizarla y buscar como poder ayudar a los pacientes, en el aspecto comercial, se puede usar esta información para ofrecer las ofertas de las medicinas que toma el usuario.

Una mejora asociada al hardware, puede ser asociar un pulsómetro a la muñeca y guardar el ritmo cardíaco en tiempo real del paciente. Así sería el complemento perfecto para la aplicación y esta podría informar de forma autónoma a la persona de emergencia si se detectan valores anómalos del ritmo del corazón.

Referencias

- [1] Martínez-Pérez B, de la Torre-Díez I, López-Coronado M, Sainz-De-Abajo B. Comparison of mobile apps for the leading causes of death among different income zones: a review of the literature and app stores. *Journal of Medical Internet Research*, vol. 16, pp. e1, 2014.
- [2] Martínez-Pérez B, de la Torre-Díez I, López-Coronado M, Herreros-González J. Mobile apps in cardiology: review. *Journal of Medical Internet Research*, vol. 15(7), pp. e15, 2015
- [3] Chan TK, Wan KA, Chan JCK, et al. New era of CPR: application of i-technology in resuscitation. *Hong Kong J Emerg Me*, vol.19, pp 305-311, 2012.
- [4] Martínez-Pérez B, de la Torre-Díez I, López-Coronado M, Sainz-de-Abajo B, Robles M, García-Gómez JM. Mobile clinical decision support systems and applications: a literature and commercial review. *Journal of Medical Systems* 2014;38(1):4, 2014.
- [5] Cruz Zapata B, Hernández Niñirola A, Idri A, Fernández-Alemán JL, Toval A (2014) Mobile PHRs compliance with android and iOS usability guidelines. *Journal of Medical Systems*, vol. 38, pp. 81, 2014.

On the Development of an Algorithm for Automatic Estimation of the Respiratory Rate using Wearable Electrocardiography

C. Veiga¹, L. Coelho^{1,2}, D. Dias³, J.P.S. Cunha^{3,4}

¹ Department of Physics, Instituto Superior de Engenharia do Porto, Portugal, {1160286,lfc}@isep.ipp.pt

² CIETI – Instituto Superior de Engenharia do Porto, Portugal

³ INESC TEC – Instituto de Engenharia de Sistemas e Computadores, Tecnologia e Ciência
{duarte.f.dias,jpcunha}@inesctec.pt

⁴ Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Portugal

Abstract

Technology is currently present in several areas of healthcare. The respiration rate (RR) along with the electrocardiogram (ECG) are important vital indicators whose values are often obtained by specific sensors. However, there is the possibility of effectively estimating RR from the electrocardiogram's signal analysis, allowing a reduction of equipment costs, as well as an increase in user's comfort. In this paper we propose an algorithm capable of detecting and evaluating respiratory cycles from an acquired ECG signals from a wearable device according to physiologically limits. For this purpose, two methods of self-evaluation were developed: the first using the duration and amplitude proper to the respiratory signals with 81.48% of precision and the second through the respiratory wave's characteristics with 100% of precision. The performance of both methods was validated in order to analyse, selecting one for the final calculations of the main characteristics of the respiratory signal. The obtained results show that the proposed algorithm can perform very well with propensity for future improvement, given the importance of the theme and the study developed.

1. Introduction

The observation of electrocardiogram (ECG) and the respiratory rate (RR), both static and dynamic values, are essential indicators for health condition evaluation [1]. To acquire the ECG signal, due to its electrical nature, it is always required to place electrodes in contact with the wearer's skin. For monitoring the respiratory rate, when highly accurate measures are needed, we can find inductive, resistive or pressure based plethysmographs as common instruments. However these can be unpractical and uncomfortable while in a wearable technology context. Other options can be, for example, a wearable thorax band with accelerometers [2] or a finger or pulse based oximetry observations [3], but these still pose many technical issues to allow accurate results.

For our purposes the estimation of RR based on the ECG signal [4] is the best option to effectively monitor the vital signs of individuals in challenging environments or activities (e.g. athletes, firefighters, army soldiers) or to conduct sleep studies comfortably, for example.

Within this framework, there are several respiratory signal extraction from the ECG processes such as Respiratory Sinus Arrhythmia (RSA), using the instantaneous heart

rate variability [5,6], the RS segment's interval or slope [5], the QRS complex [5,6], the R peak amplitude [5] and the Principal Component Analysis [7–9].

In this paper we propose a method for automatic estimation of the RR using a wearable ECG. The algorithm is to be implemented on an electronic processing device that should: a) provide real time accurate RR information; b) have a minimal power consumption; c) have a minimal cost. With these constraints in mind an approach based on the detection and evaluation of the ECG's R peaks algorithm was developed.

In the next section the materials and development methodologies that were used will be described. After, the algorithm performance is evaluated followed by a thoroughly discussion of the results. Finally, the main conclusions and foreseen improvements are shown.

2. Methods

2.1. ECG Signal Acquisition

To acquire the ECG signal there are several devices, such as VitalJacket® [10], Vital Patch® [11], SensiumVitals® [12,13], and Lifeguard [14,15], medical and wearable devices and Zephyr BioHarness [14,16], a sports equipment. In our case we have used the first option that was already available and fulfilled our signal acquisition requirements. This device is a wearable vital signs monitoring system designed and developed to be a practical approach for different clinical scenarios, in hospitals, home or on the move, that need continuous or frequent high quality vital signs monitoring from its wearer [10]. One of the objectives is to incorporate the final optimized algorithm into the device's microcontroller.

The ECG signals was acquired with a sampling frequency of 500 Hz using three electrodes configuration. The adopted acquisition strategy consisted in the elaboration of a protocol with four different typical breathing scenarios: a) Normal Breathing (NB), where the person is asked to breathe normally; b) Apnoea (AP), where the person is asked to hold his breath for 30 seconds; c) Slow Deep Breathing (SDB), where the person makes long duration respiration cycles and d) Fast Deep Breathing (FDB), where the person is hyperventilating. Using a pre-

developed script, the R peaks location and amplitude are automatically extracted from the raw ECG signal.

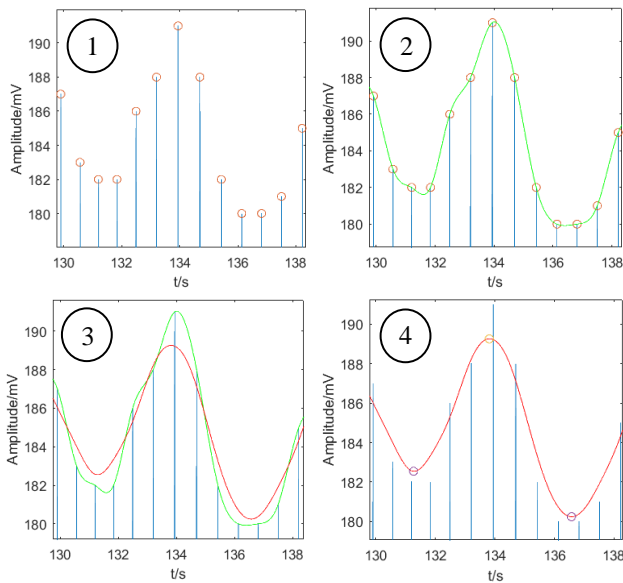


Figure 1. Schematization of the process: (1) Original Signal, (2) Signal after Cubic Spline Interpolation, (3) Signal after Filtering, (4) Detected Cycles.

2.2. Respiration Rate Estimation Algorithm

In figure 1 we can observe the signal after each step of the processing pipeline. On the upper left the initial data is depicted. Starting with this signal a filter will be applied since the ECG signal is likely to have noise due to muscle contraction for example. Before applying the filter and in order to have a better control of the process, once this respiratory signal has a very low sampling frequency, it was necessary to first increase it. Using the available points, a cubic spline interpolation was applied, which allowed to obtain a continuous form of the breathing wave. The sampling parameter used in this spline was 10 so the period of the respiratory signal was transformed to 10ms, resulting in the new sampling frequency of 100Hz. This value's choice was due to the counterbalance between having sufficient data for the following transformations and a calculation effort for the microcontroller. The obtained result can be seen on figure 1, upper right.

After increasing the sampling frequency the filter is applied. During development three filtering strategies were evaluated: a) a moving average filter; b) a 2nd order Butterworth filter; c) a 6th order Butterworth filter. These filters were first selected due to their low computational requirements. For the first filter, after testing with other values, a sliding window with covering 100 samples gave the best results, allowing a good representation of the wave without too much attenuation. For the 2nd and 6th order Butterworth Filters, a cut-off frequency of 1Hz [17] and pre-calculated parameters were used. In this stage the obtained results were very similar and since the first method is computationally simpler, it was selected for the final process. The obtained results after filtering are represented on figure 1, bottom left.

Finally, in order to define complete respirations cycles the derivative is calculated using the spline based estimated

signal. Every cycle has a peak between two valleys and it is possible to identify them when the derivative changes signal. The final signal is showed on figure 1, bottom right.

2.3. Self-Evaluation Algorithm for Error Detection

Since not all oscillations detected are truly respiratory cycles and to ensure accurate results, the obtained signal is still checked according to physiological limits. Two different methods have been tested, the first regarding the time and amplitude of the respiratory wave and the second through its characteristics.

This first evaluation (Evaluation I) consists in the acceptance of cycles with duration between 0.9-12.5 sec [18,19] and inspiratory or expiratory amplitudes of each cycle greater than about 1.3% of the average amplitude peak-valley [19].

The second method (Evaluation II) appears from the insufficiency of the previous one and since no other was found in the scientific articles consulted with greater capacity to respond to the problem, nor using the characteristics of the respiratory wave. The conditions analysed in this Evaluation II are that the ratio between the inspiratory and expiratory duration and amplitude should not exceed 1.5 and also that this inspiratory and expiratory ratio should have values lower than 290 (figure 2), in order to discard low amplitude oscillations. Finally, the length of the slope between each peak and its respective valleys must never exceed 1.7, as shown in figure 3.

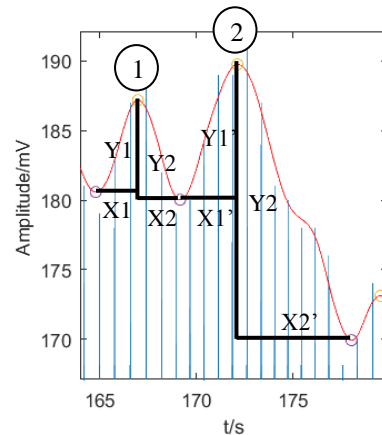


Figure 2. Ratio between inspiratory and expiratory duration and amplitude: (1) true cycle; (2) cycle to discard.

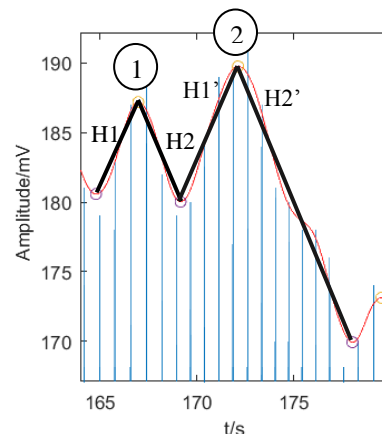


Figure 3. Ratio between the slope's length between a peak and its respective valleys: (1) true cycle; (2) cycle to discard.

3. Validation

At this stage, the methods applied are validated by comparison with the cycles that were marked at the time of acquisition in order to assess the best one, which would present better validation results. This phase began with the elaboration of a confusion matrix with the calculation of the True Positives and Negatives and False Positives and Negatives as shown in figure 2.

This was followed by the calculation of the Recall/Sensitivity, Specificity, Precision, Accuracy and Prevalence metrics. Finally, the relative error of each validation and the ratio between validated and true cycles for each method were also calculated. The validation results presented in Table 1 point to the second approach as the best evaluation.

Calculations	Results	
	Evaluation I (Time and Amplitude)	Evaluation II (Characteristics)
Recall/Sensitivity	91,67%	79,17%
Specificity	64,29%	100,00%
Precision	81,48%	100,00%
Accuracy	81,58%	86,84%
Prevalence	63,16%	63,16%
Relative Error	12,51%	-20,82%
Ratio Validated/True Cycles	1,13	0,79

Table 1. Performance evaluation results for the proposed algorithms.

As an additional way of validation, the main respiratory characteristics have been calculated as shown on Table 2. On each column, we can observe the mean values for each respiratory signal characteristic.

Characteristic	NB	SDB	FDB
Duration of Inspiration	1659	4640	1124
Duration of Expiration	1523	3780	1162
Duration of Breathing	3182	8420	2286
Respiratory Rate	9.85	3.56	13.46
Inspiration Volume	1.3×10^7	3.8×10^7	8.3×10^6
Stretch	11.33	25.26	20.42
Ratio	1.09	1.22	0.98
RSA	57.20	134.00	38.72

Table 2. Mean values of the characteristics by respiratory cadence.

The correlation between all these values in the table is as expected, since for instance the duration of breathing is minimum at the fast deep breaths and maximum at the slow deep breaths. There were different times with the same breathing type and the results also suggest that the cadences have a region within the values of a certain characteristic are determined.

4. Discussion

The first topic that required more deliberation was choosing the most appropriate filter, with a better counterbalance between filtering what was essential and without significant information losses. The diversity of frequencies due to the several breathing moments caused some difficulty. In the slow deep breaths there are some oscillations that aren't respiratory cycles, which would be ideally softened by the filter so as to be possible to identify the true cycles in this cadence. However, this wasn't possible with any of the filters tried since by soothing the slow deep breaths, the cut-off frequency chosen on the Butterworth filters would severely compromise the fast deep breaths. Thus, the moving average filter was chosen as it is computationally simpler, easing the future algorithm implementation in the device.

Another phase of great relevance was the validation. The second method does not have cycles considered False Positives, that is, all validated cycles are in fact respiratory cycles. On the one hand, the True Positives number is higher in the first validation. On the other hand and as expected, there is a greater number of False Negatives in the second, which are the true cycles that were not validated and therefore, that were not part of the True Positives.

Regarding the validation metrics, the obtained values show that both the proposed algorithm combined with both self-evaluation methods was able to perform very well on the subject's used data. The results of specificity and precision for the second method are 100%, thanks to the explained lack of False Positives, which means a good disposal of oscillations not respiratory cycles. The sensitivity numbers are predictably higher in the first one since there are fewer cycles selected. The prevalence values are the lowest but these and accuracy's are not of such importance for this study since they consider the number of cycles in the test sample, which is more relevant data in a study of apnoea moments during sleep, for example.-In the final statistics, the relative error was higher when considering the second self-evaluation mechanism, since it is a calculation with the number of cycles and the first method may admit cycles that are not actually true, which increases the final results. In the healthcare context each decision must be taken into deep thought, so it becomes more useful an algorithm that does not validate all correct cycles but discards very well what is not of interest, to the detriment of another that admits as breathing cycles some that are not. Hence in this context, the second self-evaluation method gives a greater confidence and represents an advantage.

A direct comparison of the results with other studies is not direct since it depends on the size of the analysis window [5]. In [6], an EDR analysis algorithm had a reported

accuracy of 79% using polysomnogram data. Also, a study during Cardiac MRI using an automated breath detection algorithm yielded sensitivity of 99% for EDR and 79% using RSA [6].

5. Conclusion

In this paper an algorithm for the accurate estimation of the respiratory rate using wearable electrocardiography is proposed. It represents an improvement in the monitoring of two of the most important vital signs, the cardiac activity by the ECG and breathing, since, to obtain both information, only the ECG signal is necessary. Traditional approaches require specific sensors for both measurements, increasing the user's discomfort and the overall also the cost of the equipment.

In the text, the proposed algorithm has been clearly described as well as the several validation tests that were performed. The obtained results show that this algorithm can perform very well and is a valid option when comparing with other high complexity algorithms proposed by other authors. Our project constraints imposed that the developed code could be embedded in a low power, low cost microcontroller.

As foreseen developments we envision the enhancement of the slow deep breaths cycles' interpretation. This improvement would allow the algorithm to identify this type of oscillations and hence providing more accurate breath cycles. Also, as a future improvement, we envision the use of a larger dataset in the evaluation of respiratory cycles. This would allow to elaborate an intra-variability and inter-variability analysis, to apply the proposed algorithm in a larger population and with different devices, increasing the confidence and the reliability of the results.

Since the ECG signal can be corrupted with noise due to muscle contractions of the thoracic cavity, there may be an opportunity to use this algorithm in respiratory tests during sleep to diagnose pathologies such as sleep apnoea.

As mentioned before there are several methods to obtain respiratory cycles from an ECG signal and the amplitude of the R peaks come as a first approach. It has the advantage of being computationally inexpensive and easily ported to embedded system. The obtained results show that this is a reliable technique, bringing feasibility and propensity for future improvement, given the extremely importance of the thematic and the study developed.

Acknowledgments

This work is supported by FCT funds, project UID/EQU/04730/2013.

References

- [1] Walker HK, Hall WD, Hurst JW. *Respiratory Rate and Pattern Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. 3rd edn. Boston; 1990.
- [2] Hung PD, Bonnet S, Guillemaud R, et al. Estimation of Respiratory Waveform using an Accelerometer. 2008:1493-1496.
- [3] Leonard P. Standard pulse oximeters can be used to monitor respiratory rate. *Emerg Med J*. 2003;20(6):524-525. doi:10.1136/emj.20.6.524.
- [4] Moody GB, Mark RG, Zoccola A, Mantero S. Derivation of respiratory signals from multi-lead ECGs. *Comput Cardiol 1985*; Jan 1985: 113-116. doi:10.1109/FBIE.2008.41.
- [5] Schmidt M, Schumann A, Muller J, Bar K-J, Rose G. ECG derived respiration: comparison of time-domain approaches and application to altered breathing patterns of patients with schizophrenia. 2008;(February 2016). doi:10.1042/BJ20081146.
- [6] Helfenbein E, Firoozabadi R, Chien S, Carlson E, Babaeizadeh S. Development of three methods for extracting respiration from the surface ECG: A review. *J Electrocardiol*. 2014; 47(6): 819-825. doi:10.1016/j.jelectrocard.2014.07.020.
- [7] Tiinane S, Noponen K, Tulppo M, Kiviniemi A, Seppänen T. ECG-derived respiration methods: Adapted ICA and PCA. *Med Eng Phys*. 2015; 37(5): 512-517.
- [8] Widjaja D, Perez JCVP, Dorado AC, Huffel S Van. An improved ECG-derived respiration method using kernel principal component analysis. *Comput Cardiol 2011*. 2011:45-48.
- [9] Castells F, Laguna P, Sornmo L, Bollmann A, Roig JM. Principal component analysis in ECG signal processing. *EURASIP J Adv Signal Process*. 2007;2007. doi:10.1155/2007/74580.
- [10] Cunha JPS, Cunha B, Pereira AS, Xavier W, Ferreira N, Meireles L. Vital-Jacket: A wearable wireless vital signs monitor for patients' mobility in cardiology and sports. *Pervasive Comput Technol Healthc (PervasiveHealth), 2010 4th Int Conf on-NO Permis*. 2010;(May):1-2..
- [11] VitalConnect. <https://vitalconnect.com/solutions/vitalpatch/>.
- [12] Horizon N, Centre S. SensiumVitals ® Vital Signs Monitoring Patch. *Horiz Scanning Cent*. 2014;(January).
- [13] Springer. IFMBE Proc 15th Int Conf Biomed Eng. 2013:141. https://books.google.pt/books?id=Vszo_kZl4bUC&printsec=frontcover&hl=pt-PT.
- [14] Valente JHR. *Monitorização de ECG de Pacientes Em Mobilidade*. Escola Eng. Universidade do Minho; 2014.
- [15] Lifeguard. <https://www.nasa.gov/centers/ames/research/technology-onepaggers/life-guard.html>. Published 2008.
- [16] Zephyr Bioharness. <http://www.heatstress.nl/en/product/3/zephyr-bioharness.html>.
- [17] Abreu CMV de. *Monitorização Da Frequência Respiratória Com Software Modular Para Um Sensor Optoeletrónico De Profundidade*. Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2015.
- [18] Mcfarland, D. Respiratory markers of conversational interaction. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11218097>.
- [19] Hovsepian K, Ertin E, Kamarck T, Kumar S. Stress: Towards a Gold Standard for Continuous Stress Assessment in the Mobile Environment. 2015. doi:10.1145/2750858.2807526.Stress.

ÍNDICE DE AUTORES

A

Abad, M.	367
Abella, M.	37, 243, 247, 349, 529
Acero, J.	77
Acha, B.	163, 517, 521
Aginagalde, M.	411
Aja-Fernández, S.	41
Alberdi, A.	367
Alberich-Bayarri, A.	33, 49, 81, 203, 239, 491
Alberola, J.	225, 229
Alberola-López, C.	29, 41, 45
Alcántara-Aragón, V.	265
Alcaraz, R.	19, 23, 73, 173, 181, 185, 465, 469
Aldazabal, J.	419
Alfano, F.	301
Almeida, D. A.	447
Almendral, J.	133
Alonso-Atienza, F.	3, 121
Alonso, D.	7
Alonso, E.	11, 15
Alonso, P.	415
Alonso-Alconada, D.	547
Álvarez, A.	129, 547
Álvarez, D.	209, 481
Álvarez, F. J.	129, 547
Álvarez, I.	15
Álvarez-Gila, A.	3
Amarillo, A.	275
Amestoy, H.	147
André, J. M.	307
Anso, J.	287
Aramendi, E.	3, 7, 11, 15
Aramendia, I.	55
Arana, S.	333, 433
Aranda-Iglesia, D.	375
Arce, J. L.	167, 437, 441
Arévalo, L.	167, 437, 441
Armengol, N.	407
Arranz, I.	333
Arranz, N.	345
Arregui, F. J.	455
Ascorbe, J.	455
Asensio, A.	383
Ayala, U.	3, 11, 367
Ayarza, A.	257

B

Badiola, M.	395, 543
Ballesteros, N.	243, 247, 529
Baltasar, M.	77
Bao, F.	235
Barbarov, G.	59
Barbier, L.	93
Bariáin, C.	455
Barquero-Pérez, O.	121, 473, 485
Barrenechea, M.	367
Barrenetxea, L.	55
Barroso, V.	209, 481
Batista, T.	359
Bello, C.	345
Benalcazar, C.	225, 229
Benítez, R.	391
Benito, R.	93, 157
Berbeira, M.	511
Bereciartua, A.	199
Bou-Ali, M.	411
Broncano-Cabrero, J.	41
Brull, A.	279
Bueno, G.	191, 195
Bueno, O.	301
Bujanda, L.	235
Butrón, A.	143

C

Cabanes, I.	279
Calafell, I.	451
Calderón, A. J.	235
Calvillo, J.	103, 261
Calvo, F. A.	301, 403
Calvo, M.	367
Cámara, M. A.	121
Campisi, J.	333
Cano, M.	217, 341
Cano, O.	177
Cantero, S.	473
Caramé, P.	163
Carbonell, C.	399
Carreras, J. L.	403
Casado, I.	235
Castillo, C.	235, 257, 551
Castro, P.	115
Caulier, R.	133

Caversaccio, M.	287	Estévez, J.	85
Cejudo, P.	59	Estrada, L.	85
Chicote, B.	7	F	
Civera-Tregón, A.	391	Falcón-Pérez, J. M.	411
Climent, A. M.	121	Fañjul, F.	167, 437, 441
Cloquell, T.	45	Fernández, J.	143
Coelho, F.	459	Fernández, M.	451
Coelho, L.	213, 319, 323, 459, 563	Fernández, S.	115
Coll, L.	391	Fernández-Bes, J.	337, 499
Corcuera, C.	7	Fernández-Carrobbles, M.	191
Corrêa, B.	115	Fernández-Gamiz, U.	55
Corres, J. M.	455	Fernández-Martínez, M.	221
Cortés, J. M.	63	Fernández-Terron, L.	251
Crespo, A.	209, 481	Ferrer, A.	495
Cunha, J. P. S.	323, 563	Ferrer, A. J.	477
D		Ferrero, J. M.	383, 503, 507
De Acha, N.	455	Figuera, C.	3, 121
De Andrés, J.	353	Fonfría, C.	491
De la Torre, I.	559	Fos-Guarinós, B.	239
De Luis-García, R.	29	G	
De Molina, C.	247, 529	Galdiz, J. B.	129
De Ramón, A.	97, 269	Gallego, I.	93
Del Campo, F.	481	Gallego, J.	191, 195
Del Río, J. A.	543	Galván, P.	547
Del Villar, I.	455	Gandiaga, A.	93
Delgado, L.	359	García, A.	37
Déniz, O.	191, 195	García, G.	89
Desco, M.	37, 243, 247, 251, 349, 403, 529	García, I.	349
Dias, D.	323, 563	García, J. C.	157
Díaz, A. B.	235	García, L.	307
Díaz, E.	151	García, M.	19, 525
Díaz, O.	367	García, R.	93
Díaz, S.	455	García-Alberola, A.	133, 473, 485, 555
Díaz-Parra, A.	387	García-Anduaga, G.	311
Durá, J. L.	353	García-Carmona, R.	379
Dür, C.	287	García-Carretero, R.	485
E		García-Casado, J.	85, 225, 229
El-Yaagoubi, M.	555	García-Castro, F.	49, 81, 239
Elola, A.	15	García-Marcos, R.	49
Elorza, F.	411	García-Morales, M.	521
Elosúa, C.	455	García-Saez, G.	159
Errarte, A.	411	García-Zapirain, B.	235, 257, 551
Escalante, M.	235	Garduño, D.	261
Espinosa, K.	111	Garrote, E.	3
Esteban, A.	395	Gavaghan, K.	287

Genovart, M.	423	Izeta, A.	419
Gianikellis, K.	67	J	
Gil, I.	235	Jabrane, Y.	555
Gila, L.	221	Jané, R.	85, 89
Gilart, V.	97, 269	Jensen, E. W.	399
Godino-Moya, A.	45	Jercog, P.	371
Goicoechea, J.	455	Jiménez, J.	525
Gómez, C.	217, 341	Jiménez-Pastor, A.	239
Gómez, E. J.	77, 283, 293, 535	Jorquera, D. M.	97
Gómez, M. A.	55	K	
Gómez de Mariscal, E.	403	Kamiruaga, I.	235
Gómez-Fernández, T.	283, 535	Kheirandish, L.	209, 481
González, A.	477	L	
González, C.	265, 399	Lafuente, H.	129
González, E.	411	Larrañaga, A.	345
González, F.	465, 469	Ledesma, M. J.	301
Gordaliza, P. M.	403	Lejardi, A.	345
Goya-Esteban, R.	473, 485, 555	Lespinet, V.	307
Gozal, D.	209, 481	Liberal, F.	107
Guerra, J.	323	Lizarbe, S.	333
Guillem, M. S.	121	Lizarraga, S.	301
Gutiérrez, A.	283, 535	Llorente, O.	143
Gutiérrez, G. C.	209, 481	Lopes, C.	319
Gutiérrez-Rivera, A.	419	López, A.	225, 495
H		López, C.	415
Hernández, M.	455	López, D.	455
Hernández, I.	121	López, M. I.	525
Hernando, M. E.	159, 265, 415	López, M. J.	543
Herrero, M.	301	López-Arraiza, A.	55
Herreros, J.	559	López-Coronado, M.	559
Hervera, A.	543	Lupiañez, A.	265
Hilario, E.	129, 547	M	
Hoenicka, J.	391	Madrid, A.	429
Horche, P. R.	429	Madrigal, C.	159
Hornero, F.	185	Malanda, A.	221
Hornero, R.	209, 217, 341, 481, 525	Mancisidor, A.	279
Hurtado, J.	539	Marco, F.	447
I		Marcos, D.	269
Ibáñez, I.	151	Márquez, E.	59
Ibarguren, K.	7	Martí-Bonmatí, L.	33, 49, 81, 203, 239, 491
Idígoras, I.	235	Martín, A.	341, 411
Iloro, I.	411	Martín, C.	293
Iniesta, J. M.	159, 265	Martín, P.	403
Irusta, U.	3, 7, 11, 15, 199		
Isasi, I.	11		

Martín-Fernández, M.	45	Ortigosa, N.	177
Martino, M. E.	403	Ortiz, J.	63
Martins, P.	319	Ortuño, J. E.	301
Martins da Silva, A.	213	Osorio, D.	23, 181
Martínez, A.	37, 243	Otero, A.	379
Martínez, C.	265, 529	Ozcáriz, A.	455
Martínez, L.	495		
Martínez, M.	73, 173	P	
Martinez, M. J.	265	Palau, F.	391
Martínez de Apellániz, I.	333	Pardal, S.	559
Mas, J.	225, 229	Paredes, J.	419, 433
Mateos, J. J.	157	Pascau, J.	301, 403
Matías, I. R.	455	Pascual-Belda, A.	387
Mayorga-Ruiz, I.	81	Pedreira, M.	103
Meaurio, E.	139, 143, 147	Peña, C.	315
Mendoza, L.	315	Peral-Boiza, M.	283, 535
Merino-Torres, J. F.	265	Perales, A.	225, 229
Miguel, M.	319	Pérez, E.	433
Miklavčič, D.	359	Pérez, F.	301
Mínguez, R.	55	Pérez, J.	203
Mitxelena, O.	333, 363	Pérez, J. A.	517
Mora, M. T.	507	Pérez, M. A.	49
Moratal, D.	387	Pérez-Gandía, C.	159, 265
Moreno, M.	269	Petuya, V.	311
Moreno, P.	33	Picon, A.	3, 199
Morentin, R.	235	Polo, R.	37
Moya-Sáez, E.	29	Portillo, E.	279
Mujika, M.	333	Portillo, I.	235
Muñoz, J.	451	Poza, J.	217, 341
Muñoz, S.	133, 555	Prado, M. C.	93
Muñoz-Barrutia, A.	251, 403	Prats, G.	85, 225, 229
Muro, A.	257	Presas, J.	275
		Puerto, I.	151
N		Pueyo, E.	337, 499
Naranjo, D.	59		
Navallas, J.	221	R	
Nicolás, J. M.	115	Ràfols de Urquí, M.	85
Nogueira, E.	459	Ramón, J. L.	327
Noval, Y.	111	Ramón-Lozano, C.	375
Núñez, M.	63	Reina, J.	59
Núñez, P.	217, 341	Reis, S.	213, 319, 459
		Renú, E.	503
O		Rica, M.	419
Oñativia, J.	275	Rieta, J. J.	19, 23, 73, 173, 181, 185, 465, 469
Orive, A.	235	Rivero, P. J.	455
Oropesa, I.	77, 293, 415	Roa, L. M.	59, 103, 261, 511
Ortega, F.	59	Roberto, C.	491

Roca, J.	539	Santos, A.	301
Rocher, S.	491, 495	Sanz, S.	41
Ródenas, J.	19, 73, 173	Sarasua, J. R.	139, 143, 147, 345, 451
Rodrigo-Cano, S.	265	Sarlabous, L.	85
Rodríguez, A.	203, 279	Scheidegger, O.	287
Rodríguez, I.	221	Segura, M.	543
Rodríguez, J.	221	Sempere, C.	225
Rodríguez, M.	89	Serrano, C.	163, 517, 521
Rodríguez, O. M.	93	Serrano, L.	447
Rodríguez, V.	217	Sharpe, S.	251
Rodríguez-Martínez, J. A.	375	Silva, J.	213
Rodríguez-Vila, B.	283, 535	Simmross-Wattenberg, F.	29
Rojo-Alvarez, J. L.	133, 473, 485, 555	Skiadopoulos, A.	67
Román, I.	103, 261	Soares, L.	319, 459
Romero, R.	209, 481, 525	Socorro-Leranoz, A. B.	455
Ron, R.	307	Solaberrieta, E.	55, 327
Ros, A.	447	Solanes, C.	353
Royuela, J.	41, 45	Soto, J.	315
Rubio, L. A.	93	Suárez, C.	275
Ruete, L.	455	Suárez-Gutiérrez, V.	121
Ruiz, C.	327	Swiderska-Chadaj, Z.	195
Ruiz, D.	97, 269		
Ruiz, E.	33	T	
Ruiz, S. J.	217, 341	Talaminos, A.	511
Ruiz-Zamarreño, C.	455	Tamayo, M. C.	327
		Tapia, J.	159, 265
S		Teixeira, J.	319
Sacristán, O.	311	Tejo, A.	419
Sadaba, N.	451	Ten, A.	49, 203
Saiz, J.	125, 353, 491, 495	Tenés, S.	265
Salado, J. P.	199	Tola, M. A.	217, 341
Samitier, J.	395, 543	Tomàs, D.	371
Sampedro-Puente, D. A.	337, 499	Torres, A.	85
Sánchez, A.	235	Treceño-Fernández, D.	29
Sánchez, D.	495	Trenor, B.	125, 507
Sánchez, E.	139	Tseng, P. H.	407
Sánchez, I.	379	Tubia, I.	433
Sánchez, J.	125	Tungstal, H.	147
Sánchez, O.	345		
Sánchez, P.	77, 283, 293, 535	U	
Sánchez-Margallo, F. M.	67, 293, 297	Uresandi, A.	157
Sánchez-Margallo, J. A.	67, 293, 297	Urgeles, D.	159
Sánchez-Tapia, E.	275	Urrutia, A.	455
Sánchez-Zabal, P.	455	Ustarroz, I.	157
Sancho, J.	55		
Sanchoyerto, A.	107	V	
Sanjuan, A.	97	Vallverdú, M.	399

Vaqueriza, M. M.	7
Vaquerizo, F.	209, 481
Vaquero, J. J.	251
Vara, M.	157
Vázquez, R.	59
Veiga, C.	563
Veintemillas, J. F.	7
Vicente, F.	7
Vidal, N.	115
Vivas, D.	33
Vives, V.	97, 269
Voces, R.	93

W

Weber, S.	287
Wimmer, W.	287

Y

Ye, X.	243
Yébana-Huertas, R.	81
Ye-Lin, Y.	225, 229
Ying, H.	535
Yndriago, L.	419

Z

Zaballa, M.	235
Zabalo, J.	363
Zhukov, A.	333
Zhukova, V.	333
Zorriketa, J. M.	257
Zubiate, P.	455
Zubizarreta, A.	279
Zufiria, B.	251
Zuza, E.	451


CASEIB
2017
XXXV
Congreso Anual
de la Sociedad
Española de
Ingeniería
Biomédica

ORGANIZADORES



BILBOKO
INGENIARITZA
ESKOLA
ESCUELA
DE INGENIERÍA
DE BILBAO



PATROCINADORES

